



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS  
QUÍMICAS**

**“DOBLE ADICIÓN NUCLEOFÍLICA DE ACETALES DE  
1,1-*BIS*(TRIMETILSILIL)CETENA A SALES DE PIRAZINA Y PIRIMIDINA”**

TESIS  
PARA OPTAR POR EL GRADO DE  
**MAESTRO EN CIENCIAS**

PRESENTA

Q. AZUCENA GARDUÑO ALVA



TUTOR: DR. CECILIO ÁLVAREZ TOLEDANO

2008

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad Nacional Autónoma de México por darme la oportunidad de obtener los conocimientos necesarios para un mejor desarrollo personal.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para la realización de mis estudios de Maestría (No. de registro 205453) y al proyecto No. 46824-Q.

A la DGPA-PAPIIT-UNAM por el apoyo otorgado al proyecto de investigación.

Al Dr. Cecilio Álvarez Toledano por todo el apoyo, comentarios y sugerencias que me ha brindado durante este tiempo.

Al Dr. José Guadalupe López Cortés y la Dra. Ma. del Carmen Ortega Alfaro por sus valiosos comentarios.

A la M. en C. María Teresa Ramírez Apan por su colaboración en los ensayos farmacológicos.

Al Dr. Alfredo Toscano por la resolución de la estructura de rayos-X presentada en este trabajo.

Al H. Jurado por las observaciones realizadas para mejorar el trabajo.

## **DEDICATORIAS**

A mis padres, por su apoyo durante todos estos años.

A Mario, por tu amor y apoyo incondicional, TE AMO

**ÍNDICE GENERAL**

|   |    |
|---|----|
| INTRODUCCIÓN  | 1  |
| OBJETIVOS   | 2  |
| JUSTIFICACIÓN   | 3  |
| CAPÍTULO 1 – GENERALIDADES                                      | 4  |
| 1.1 Lactonas  | 5  |
| 1.1.1 Importancia biológica                                     | 6  |
| 1.1.2 Métodos generales de síntesis                             | 7  |
| 1.1.2.1 Ciclización intramolecular de hidroxiaácidos            | 7  |
| 1.1.2.2 Ciclización intramolecular de ácidos insaturados        | 8  |
| 1.1.2.3 Reacciones de oxidación                                 | 9  |
| 1.2 Diazinas  | 10 |
| 1.2.1 Reactividad   | 10 |
| 1.2.2 Importancia biológica                                     | 12 |
| 1.3 Acetales de <i>bis</i> (trimetilsilil)cetena                | 14 |
| 1.3.1 Síntesis  | 15 |
| 1.3.2 Reactividad   | 16 |
| 1.3.2.1 Síntesis de $\beta$ -hidroxiaácidos                     | 16 |
| 1.3.2.2 Reacciones con iminas                                   | 17 |
| 1.4 Pruebas de actividad biológica                              | 17 |
| 1.4.1 Citotoxicidad   | 17 |
| 1.4.2 Inflamación   | 17 |
| 1.5 Antecedentes  | 10 |
| CAPÍTULO 2 – RESULTADOS Y DISCUSIÓN                             | 24 |
| 2.1 Acetales de 1,1- <i>bis</i> (trimetilsilil)cetena empleados | 25 |

|   |    |
|---|----|
| 2.2 Doble adición nucleofílica de acetales de 1,1- <i>bis</i> (trimetilsilil)cetena sobre la pirazina   | 26 |
| 2.3 Doble adición nucleofílica de acetales de 1,1- <i>bis</i> (trimetilsilil)cetena sobre la pirimidina | 34 |
| 2.4 Actividad citotóxica  | 45 |
| 2.5 Actividad anti-inflamatoria   | 47 |
| <br>  |    |
| CAPÍTULO 3- SECCIÓN EXPERIMENTAL  | 49 |
| 3.1 Reactivos   | 50 |
| 3.2 Caracterización Instrumental  | 50 |
| 3.3 Síntesis de los ésteres de trimetilsililo y los acetales de <i>bis</i> (trimetilsilil)cetena        | 50 |
| 3.3.1 Procedimiento   | 50 |
| 3.4 Síntesis de $\gamma$ -lactonas a partir de pirazina   | 51 |
| 3.4.1 Procedimiento   | 51 |
| 3.5 Síntesis de $\delta$ -lactonas a partir de pirimidina   | 54 |
| 3.5.1 Procedimiento   | 54 |
| 3.6 Actividad biológica   | 57 |
| 3.6.1 Pruebas de citotoxicidad  | 57 |
| 3.6.2 Actividad anti-inflamatoria   | 58 |
| <br>  |    |
| CONCLUSIONES  | 60 |
| <br>  |    |
| PERSPECTIVAS  | 61 |
| <br>  |    |
| REFERENCIAS   | 62 |

ÍNDICE DE FIGURAS

|    |  |    |
|----|--|----|
| 1  | Estructura de la $\gamma$ - y $\delta$ -lactona  | 5  |
| 2  | Conformación <i>cis</i> y <i>trans</i> de las lactonas   | 5  |
| 3  | Traslape de los orbitales <i>p</i> de la $\gamma$ -lactona   | 5  |
| 4  | Ejemplos de $\alpha$ -metilen- $\gamma$ -butirolactonas con actividad citotóxica, fitotóxica y antimicrobiana.             | 6  |
| 5  | Ejemplos de lactonas presentes en la naturaleza  | 6  |
| 6  | Vitamina C   | 7  |
| 7  | Estructura de la piridazina, la pirimidina y la pirazina   | 10 |
| 8  | Ejemplos de pirimidinas  | 12 |
| 9  | Ejemplos de pirazinas presentes en la naturaleza   | 13 |
| 10 | Pirimidinas empleadas como fármacos  | 13 |
| 11 | Estructura de un acetal de cetena ( <b>4</b> ), de un éster en la forma enólica ( <b>5</b> ) y de una cetena ( <b>6</b> ). | 14 |
| 12 | 13-Acetato de 12-O-tetradecanoilforbol (TPA)   | 18 |
| 13 | Espectro de IR (película) de <b>1a</b>   | 29 |
| 14 | Espectro de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ ) de <b>1a</b>  | 31 |
| 15 | Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ ( $\text{CDCl}_3$ ) de <b>1a</b>   | 32 |
| 16 | Espectro de Masas ( $\text{IE}^+$ ) de <b>1a</b>   | 33 |
| 17 | Espectro de IR (película) de <b>2a</b>   | 38 |
| 18 | Espectro de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ ) de <b>2a</b>  | 39 |
| 19 | Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ ( $\text{CDCl}_3$ ) de <b>2a</b>   | 40 |
| 20 | Espectro de masas de <b>2a</b>   | 41 |
| 21 | Proyección tipo ORTEP para el compuesto <b>2a</b>  | 42 |
| 22 | Configuración de los estereoisómeros de <b>2</b>   | 44 |
| 23 | Sulforodamina B  | 45 |
| 24 | Indometacina   | 48 |

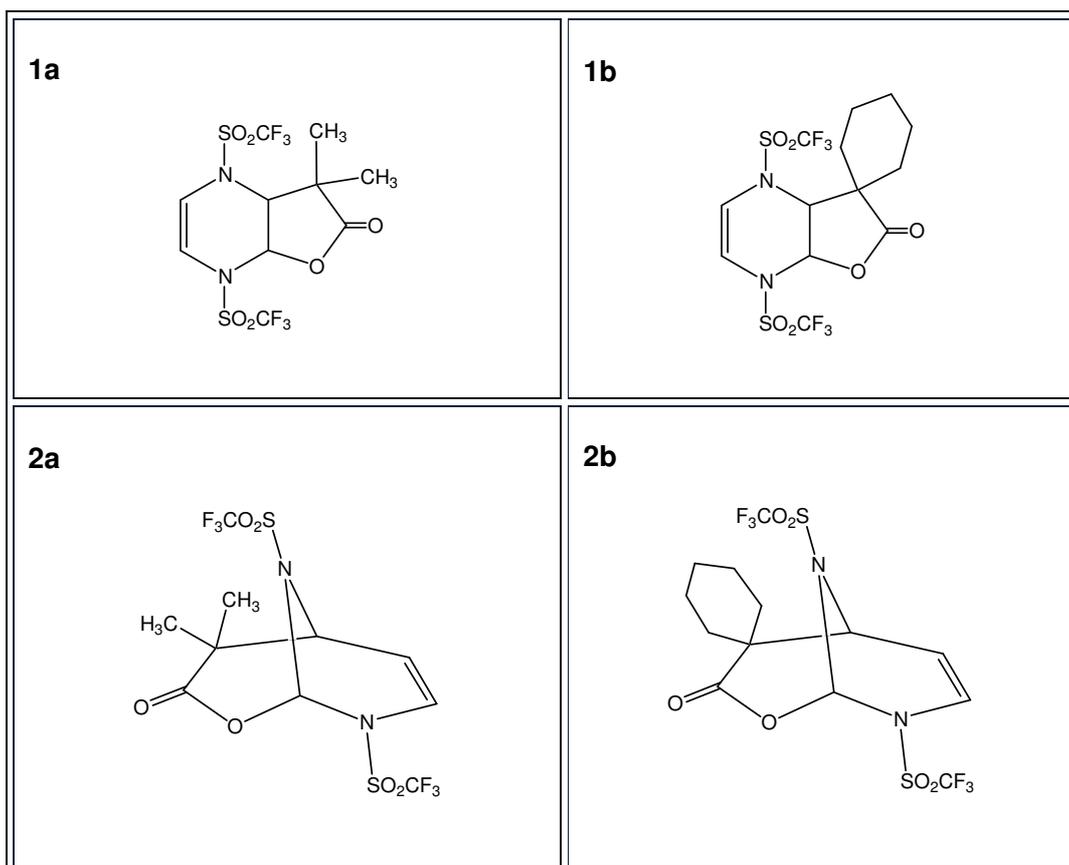
**ÍNDICE DE TABLAS**

|           |  |    |
|-----------|--|----|
| <b>1</b>  | Propiedades de las diazinas  | 11 |
| <b>2</b>  | Rendimiento, punto de fusión y PM de <b>1</b>  | 28 |
| <b>3</b>  | Desplazamientos químicos de RMN <sup>1</sup> H para <b>1</b>   | 30 |
| <b>4</b>  | Desplazamientos químicos característicos de RMN <sup>13</sup> C para <b>1</b>  | 32 |
| <b>5</b>  | Distribución isotópica de los picos más significativos de <b>1a</b>  | 34 |
| <b>6</b>  | Rendimiento, punto de fusión y PM de <b>2</b>  | 37 |
| <b>7</b>  | Desplazamiento de las bandas en los espectros de IR para <b>2</b>  | 37 |
| <b>8</b>  | Desplazamientos químicos de RMN <sup>1</sup> H para <b>2</b>   | 38 |
| <b>9</b>  | Desplazamientos químicos representativos de RMN <sup>13</sup> C para <b>2</b>  | 40 |
| <b>10</b> | Distribución isotópica de los picos mas significativos de <b>2a</b>  | 41 |
| <b>11</b> | Datos cristalográficos de <b>2a</b>  | 43 |
| <b>12</b> | Distancias de enlace (Å) de <b>2a</b>  | 43 |
| <b>13</b> | Ángulos de enlace (°) de <b>2a</b>   | 44 |
| <b>14</b> | Porcentaje de inhibición del crecimiento por línea celular   | 46 |
| <b>15</b> | Efecto de inhibición de los compuestos <b>1a</b> , <b>1b</b> e indometacina en el edema inducido por TPA en la oreja de ratón y los valores calculados de la concentración que inhibe el 50% del edema | 47 |

**ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS**

|                     |  |
|---------------------|--|
| AZT                 | Azidotimidina                                    |
| Bn                  | Bencilo [PhCH <sub>2</sub> -]                    |
| Boc                 | <i>t</i> -Butilcarbonilo [Me <sub>3</sub> COC=O] |
| c                   | Señal cuádruple                                  |
| CI <sub>50</sub>    | Concentración de inhibición 50                   |
| cm <sup>-1</sup>    | Unidades del número de onda                      |
| d                   | Señal doble                                      |
| EM                  | Espectrometría de masas                          |
| δ                   | Desplazamiento químico                           |
| h                   | Señal héptuple                                   |
| Hz                  | Hercios  |
| IE                  | Impacto electrónico                              |
| IR                  | Infrarrojo                                       |
| <i>J</i>            | Constante de acoplamiento                        |
| LDA                 | Diisopropilamiduro de litio                      |
| m                   | Señal múltiple                                   |
| M <sup>+</sup>      | Ion molecular                                    |
| MHz                 | Megahertz  |
| min                 | Minutos  |
| mL                  | Mililitros                                       |
| mmol                | Milimoles  |
| MTO                 | Metiltrioxorenio                                 |
| m/z                 | Unidades de masa / carga                         |
| NBS                 | N-Bromosuccinimida                               |
| Ph                  | Fenilo   |
| PM                  | Peso molecular                                   |
| ppm                 | Partes por millón                                |
| Py                  | Piridina   |
| RMN                 | Resonancia Magnética Nuclear                     |
| RMN <sup>1</sup> H  | Resonancia Magnética Nuclear de <sup>1</sup> H   |
| RMN <sup>13</sup> C | Resonancia Magnética Nuclear de <sup>13</sup> C  |
| s                   | Señal sencilla                                   |
| SIDA                | Síndrome de inmunodeficiencia adquirida          |
| Tf                  | Trifluorometansulfonilo                          |
| THF                 | Tetrahidrofurano                                 |
| TMS                 | Tetrametilsilano                                 |
| TMSCI               | Clorotrimetilsilano                              |
| TPA                 | 13-Acetato de 12-O-tetradecanoilforbol           |
| VIH                 | Virus de inmunodeficiencia humana                |

TABLA DE NUEVOS COMPUESTOS SINTETIZADOS



## INTRODUCCIÓN

Las lactonas son un grupo importante de compuestos que poseen una gran variedad de propiedades biológicas, citotóxicas y bactericidas.<sup>[1]</sup> Por tal motivo, resulta de interés, tanto desde el punto de vista químico como biológico, desarrollar métodos de síntesis de lactonas que involucren menor número de pasos y con buenos rendimientos.

Los acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena pueden actuar como nucleófilos dobles para formar lactonas funcionalizadas, por medio de una reacción de adición a un doble enlace activado, formando enlaces carbono-carbono y carbono-oxígeno. En la literatura se ha reportado la síntesis de lactonas empleando los acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena con complejos orgánicos activados (acetatos alílicos en presencia de Pd(0)<sup>[2]</sup> o compuestos  $\eta^6$ -arentricarbonilcromo<sup>[3]</sup>).

En nuestro equipo de trabajo se ha realizado la síntesis de nuevas lactonas bicíclicas fusionadas empleando los acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena y complejos  $\eta^6$ -tricarbonilcromo,<sup>[4]</sup> funcionalizándolas mediante reacciones de Diles y Alder y formando peroxolactonas, estas últimas mostraron resultados satisfactorios en pruebas de actividad citotóxica en seis líneas celulares de cáncer humano.

Además de los complejos de cromo, también se han preparado lactonas a partir de heterociclos,<sup>[5]</sup> que contienen uno o dos átomos de nitrógeno, con los acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena. En el caso de la piridina, una vez activada al ataque nucleofílico, se obtiene el ácido carboxílico correspondiente que se hace reaccionar con yodo para formar la lactona. Sin embargo, cuando se activa la pirazina, ésta reacciona con el acetal de *bis*(trimetilsilil)cetena formando la lactona, sin necesidad del uso de yodo.

En este trabajo se realizó la síntesis de nuevas lactonas policíclicas empleando heterociclos con dos átomos de nitrógeno (pirazina y pirimidina), activados a un doble ataque nucleofílico de los acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena. Las diazinas se activaron con el anhídrido trifluorometasulfónico, ya que trabajos previos en nuestro laboratorio mostraron que la presencia del grupo trifluorometansulfonilo contribuye a un aumento de la actividad farmacológica de los compuestos preparados y evaluados.<sup>[6]</sup>

## OBJETIVOS

### Objetivo General:

- Llevar a cabo la lactonización empleando acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena y diazinas (pirazina y pirimidina), activadas con anhídrido trifluorometansulfónico.

### Objetivos Específicos:

- Sintetizar y caracterizar los compuestos 2-metil-1,1-*bis*(trimetilsililoxi)propeno y 1,1-*bis*(trimetilsililoxi)ciclohexilideno a partir de los ácidos carboxílicos correspondientes.
- Sintetizar y caracterizar los nuevos productos derivados de la adición nucleofílica durante la reacción de acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena con diazinas (pirimidina y pirazina).
- Evaluar la actividad citotóxica de algunos compuestos sintetizados en líneas celulares de cáncer humano: U251 (glía de sistema nervioso central), PC-3 (próstata), K562 (leucemia), HCT-15 (colon), MCF-7 (mama) y SKLU-1 (pulmón).
- Evaluar la actividad anti-inflamatoria de algunos compuestos sintetizados sobre el edema inducido por TPA (13-acetato de 12-O-tetradecanoilforbol) en orejas de ratones.

## JUSTIFICACIÓN

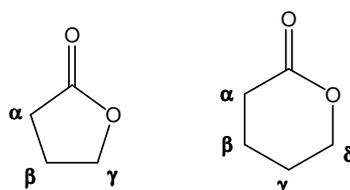
Se sabe que los acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena actúan como dinucleófilos formando lactonas con las sales de los compuestos azaaromáticos (piridina, quinoxalina) y diazaaromáticos (pirazina). Sin embargo, no hay reportes en la literatura sobre reacciones con la pirazina y la pirimidina activadas con anhídrido trifluorometansulfónico. Por tanto, se espera que estos compuestos, una vez activados, se comporten de manera semejante pudiéndose preparar lactonas bicíclicas.

# **CAPÍTULO 1**

# **GENERALIDADES**

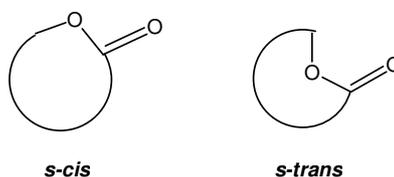
## 1.1 LACTONAS

Las lactonas son ésteres cíclicos, formados cuando un grupo hidroxilo y carboxilo están presentes en la misma molécula. El tamaño del anillo se indica con las letras griegas  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ , etc. De esta forma, cuando el anillo es de cinco miembros se denomina  $\gamma$ -lactona y cuando es de seis miembros  $\delta$ -lactona<sup>[7]</sup> (Figura 1).



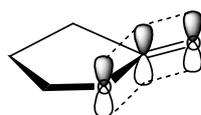
**Figura 1.** Estructura de la  $\gamma$  y  $\delta$ -lactona.

Las lactonas de anillos pequeños tienen la conformación *cis* mientras que las de anillos de 8 y 9 miembros están presentes como mezcla de ambos isómeros *cis* y *trans*, las lactonas de anillos de 10 y mayores tienen exclusivamente la conformación *trans* (Figura 2).



**Figura 2.** Conformación *cis* y *trans* de las lactonas.

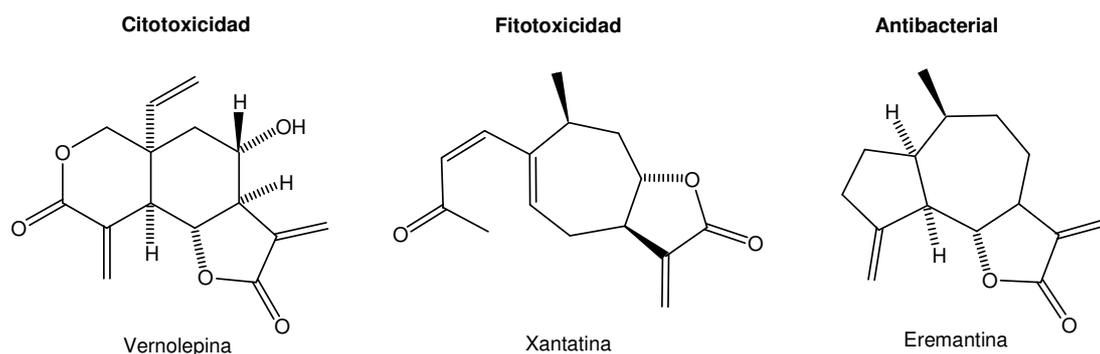
En particular, las  $\gamma$ -lactonas se encuentran distribuidas ampliamente en la naturaleza y son piezas clave en la síntesis de productos naturales como alcaloides, antibióticos, feromonas y componentes de saborizantes.<sup>[8]</sup> Químicamente son más fáciles de formar y estables, esto se atribuye a que el anillo tiene una estructura cercana a la planaridad,<sup>[7]</sup> permitiendo un mejor traslape de los orbitales  $p$  (Figura 3).



**Figura 3.** Traslape de los orbitales  $p$  de la  $\gamma$ -lactona.

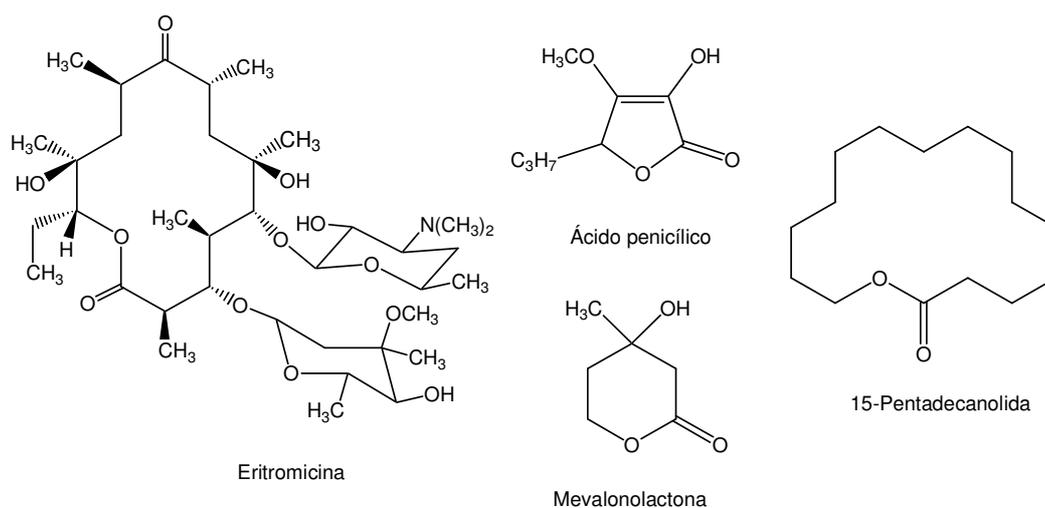
### 1.1.1 Importancia biológica

Las lactonas constituyen un importante grupo de productos naturales que poseen actividad citotóxica,<sup>[9,10]</sup> fitotóxica y antimicrobiana como en el caso de las  $\alpha$ -metilen- $\gamma$ -butirolactonas<sup>[1]</sup> (Figura 4).



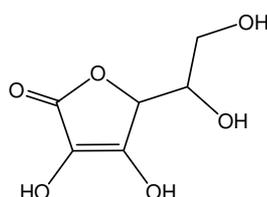
**Figura 4.** Ejemplos de  $\alpha$ -metilen- $\gamma$ -butirolactonas con actividad citotóxica, fitotóxica y antimicrobiana.

Las lactonas presentes en la naturaleza también son interesantes por su actividad antibiótica, por ejemplo el ácido penicílico<sup>[11]</sup> y la eritromicina<sup>[12]</sup> (esta última empleada para el tratamiento de la bronquitis); en perfumería se emplea la 15-pentadecanolida y la mevalonolactona<sup>[10]</sup> es un intermediario en la biosíntesis de terpenos y esteroides (Figura 5).



**Figura 5.** Ejemplos de lactonas presentes en la naturaleza.

La vitamina C o ácido ascórbico (Figura 6), presente en una gran variedad de frutas y verduras, es una  $\gamma$ -lactona necesaria para el ser humano y una de sus muchas funciones es actuar como antioxidante.

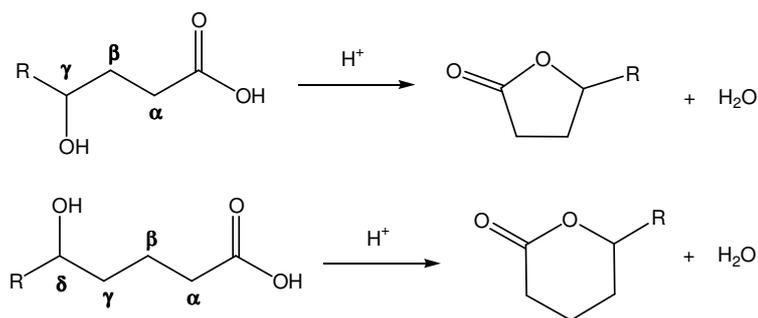


**Figura 6. Vitamina C.**

### 1.1.2 Métodos generales de síntesis

#### 1.1.2.1 Ciclización intramolecular de hidroxiaácidos

Los  $\gamma$ - y  $\delta$ -hidroxiaácidos se lactonizan fácilmente en medio ácido; además, en algunos casos pierden agua espontáneamente y forman la lactona (Esquema 1). Por este método no es posible preparar  $\beta$ -lactonas partiendo de un  $\beta$ -hidroxiaácido ya que en lugar de lactonizarse el ácido, ocurre la  $\beta$ -eliminación dando como producto un ácido  $\alpha,\beta$ -insaturado.<sup>[13]</sup>

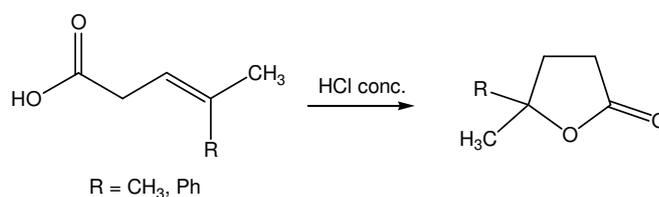


**Esquema 1**

### 1.1.2.2 Ciclización intramolecular de ácidos insaturados

#### A) Reacciones catalizadas por ácidos

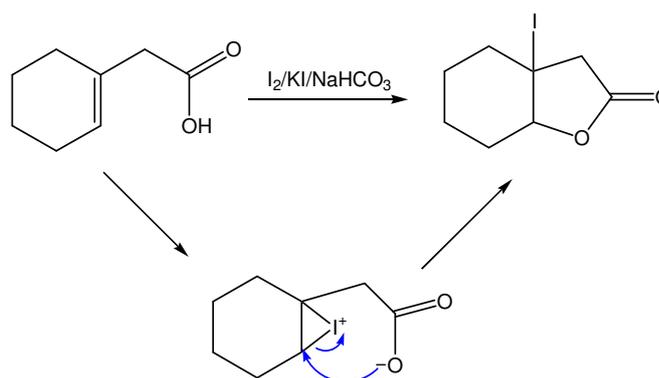
Los ácidos carboxílicos con un doble enlace en la cadena hidrocarbonada en presencia de un ácido fuerte experimentan una adición intramolecular formando  $\gamma$ - o  $\delta$ -lactonas<sup>[14]</sup> (Esquema 2).



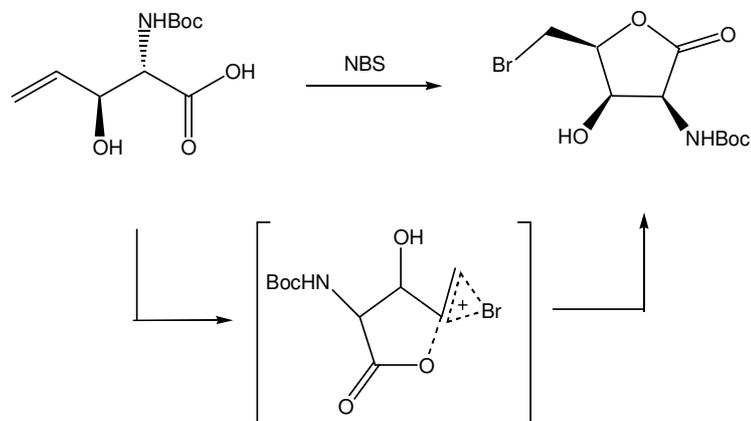
**Esquema 2**

#### B) Halolactonización

La reacción de los ácidos  $\beta,\gamma$ -insaturados y  $\gamma,\delta$ -insaturados con el tratamiento de  $\text{I}_2/\text{KI}/\text{NaHCO}_3$  en solución acuosa forman yodolactonas<sup>[15, 16]</sup> (Esquema 3).



Los ácidos insaturados también puede lactonizarse usando N-bromosuccinimida (Esquema 4), la reacción recibe el nombre de bromolactonización.<sup>[17]</sup>

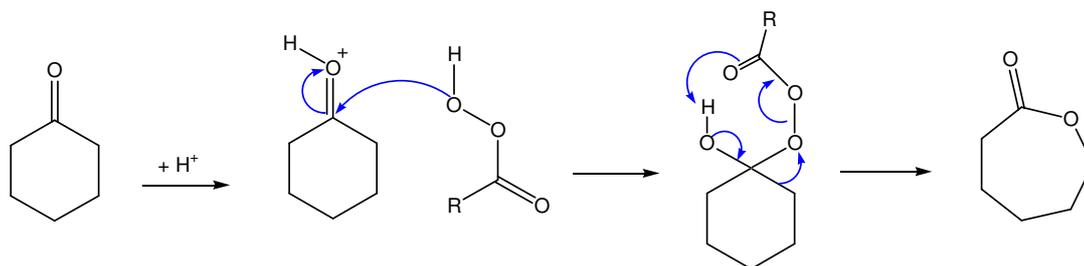


**Esquema 4**

### 1.1.2.3 Reacciones de oxidación

#### A) A partir de cetonas cíclicas

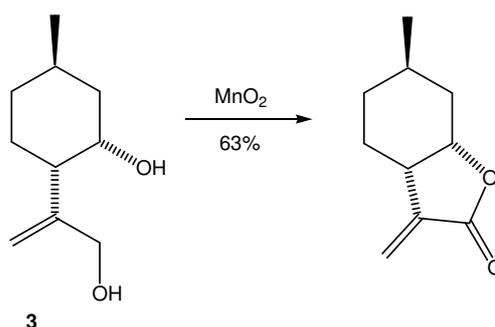
Las cetonas cíclicas pueden oxidarse en presencia de un perácido a lactonas (reacción de Baeyer-Villiger), donde el carbono adyacente al grupo carbonilo se une a un átomo de oxígeno, las cetonas cíclicas asimétricas dan lugar a la formación de dos productos. En el Esquema 5 se encuentra el mecanismo de la reacción de la ciclohexanona al oxidarse en presencia de un perácido a la  $\epsilon$ -caprolactona.<sup>[18]</sup>



**Esquema 5**

## B) A partir de dioles

Una gran variedad de dioles pueden oxidarse a lactonas empleando permanganato de potasio, dióxido de manganeso o ácido crómico.<sup>[16]</sup> En el Esquema 6 el diol **3** se convierte directamente a la lactona con un buen rendimiento por medio de este método.<sup>[7]</sup>

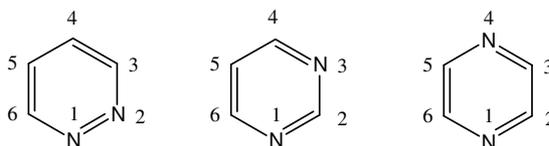


**Esquema 6**

## 1.2 DIAZINAS

### 1.2.1 Reactividad

Las diazinas son compuestos aromáticos cuyo anillo de seis miembros contiene dos átomos de nitrógeno. Para nombrarlos se usa la terminología de los compuestos de benceno, *orto* (1,2-), *meta* (1,3-) o *para* (1,4-), pero comúnmente se conocen por sus nombres triviales, piridazina, pirimidina y pirazina.<sup>[19a]</sup> Las tres diazinas (Figura 7) son estables, incoloras, solubles en agua y se comportan como bases débiles. Estos tres heterociclos, a diferencia de la piridina, son caros y rara vez se usan como materias primas para la síntesis de sus derivados.



**Figura 7. Estructura de la piridazina, la pirimidina y la pirazina.**

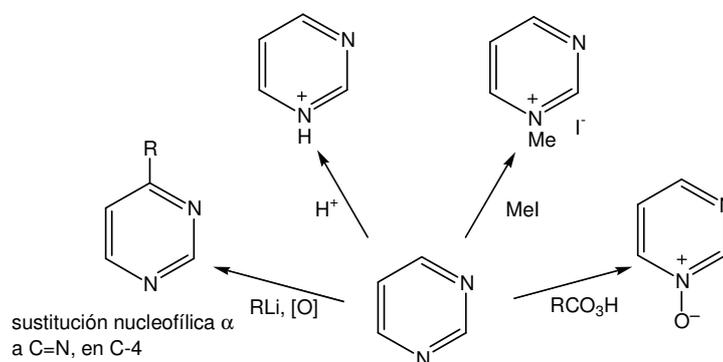
Algunas propiedades de las diazinas se enlistan en la Tabla 1. Un aspecto llamativo de las propiedades físicas de las tres diazinas es que la piridazina tiene un alto punto de ebullición (207 °C), entre 80-90 °C más alto que el de la pirimidina (124 °C) y la pirazina (121 °C). El alto punto de ebullición de la piridazina se atribuye a la polarizabilidad del enlace N-N que da lugar a una asociación dipolar en el líquido.

**Tabla 1. Propiedades de las diazinas.**

|                   | Punto de fusión (°C) | Punto de ebullición (°C) | pKb  |
|-------------------|----------------------|--------------------------|------|
| <b>Piridazina</b> | -6.4                 | 207                      | 2.33 |
| <b>Pirimidina</b> | 22.5                 | 124                      | 1.30 |
| <b>Pirazina</b>   | 54                   | 121                      | 0.65 |

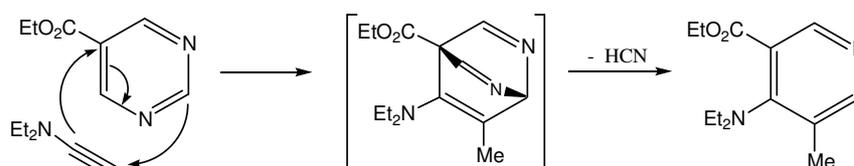
Los dos átomos de nitrógeno en las diazinas retiran más densidad electrónica en el anillo aromático que el átomo de nitrógeno en la piridina, por ello las diazinas no sustituidas son más resistentes a la sustitución electrofílica que la piridina. Esta deficiencia de densidad electrónica en los átomos de carbono hace a las diazinas más susceptibles de ataques nucleofílicos que las piridinas.<sup>[19b]</sup>

Generalmente, la adición electrofílica tiene lugar únicamente en uno de los átomos de nitrógeno, debido a que la presencia de la carga positiva en los productos hace al segundo átomo de nitrógeno extremadamente no reactivo hacia la adición de un segundo electrófilo. En el Esquema 7 se muestra la reactividad típica de las diazinas, ejemplificada por la pirimidina.



**Esquema 7**

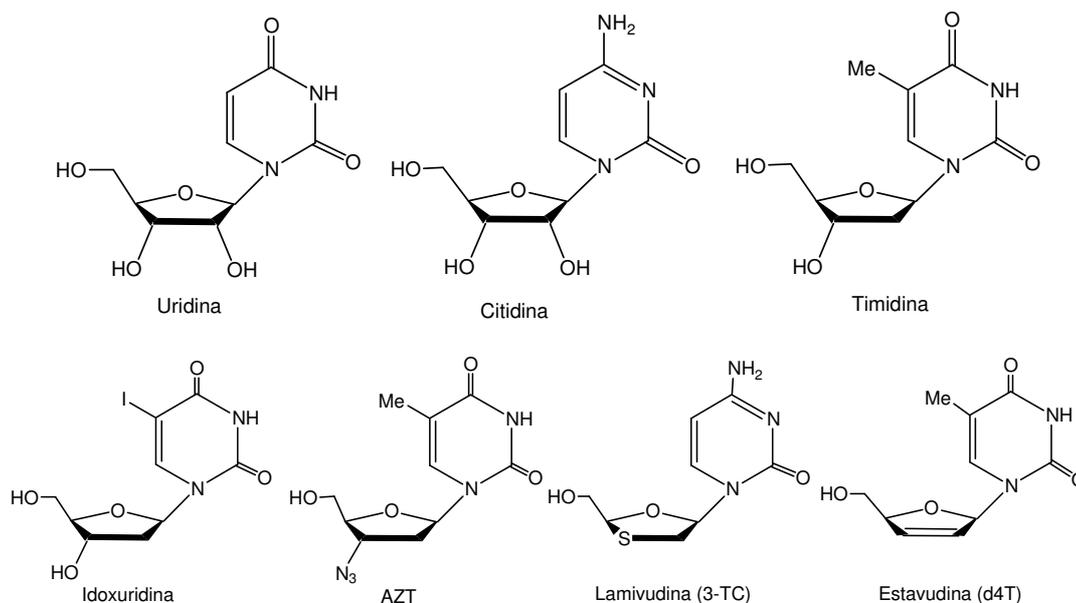
Aunque existe controversia sobre las mediciones cuantitativas de aromaticidad, los resultados confirman que las diazinas están menos estabilizadas por resonancia que las piridinas, es decir son menos aromáticas. Por lo tanto, los tres sistemas llevan a cabo adiciones de Diles y Alder, donde los heterociclos actúan como dienos (Esquema 8).



**Esquema 8**

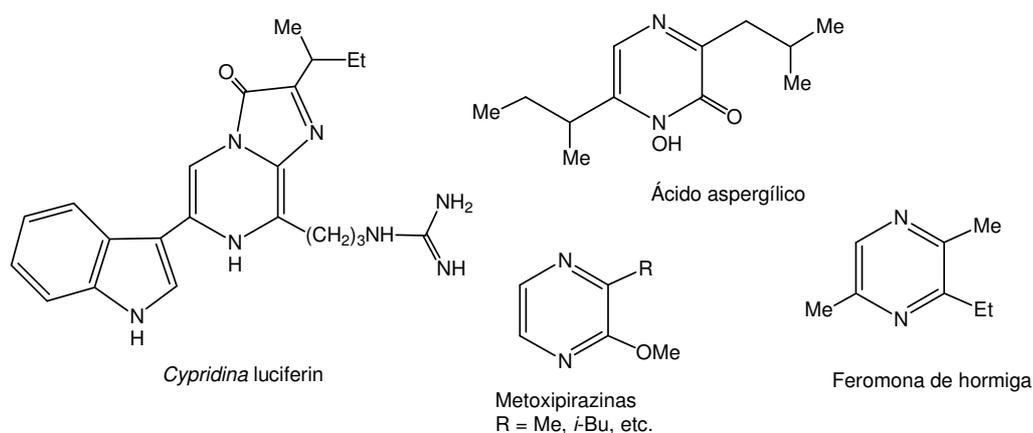
### 1.2.2 Importancia biológica

La diazina de mayor importancia en la naturaleza está representada en las bases pirimídicas, uracilo, timina y citosina, constituyentes de los ácidos nucleicos. Por ello, se han desarrollado varios análogos de nucleósidos de pirimidina como agentes antivirales, por ejemplo la idoxuridina para el tratamiento de infecciones del ojo por Herpes, la azidotimidina (AZT) es ampliamente usada como medicamento contra el SIDA; la lamivudina (3-TC) para tratar la hepatitis B y el SIDA, y la estavudina (d4T) para el tratamiento de la infección por VIH (Figura 8).



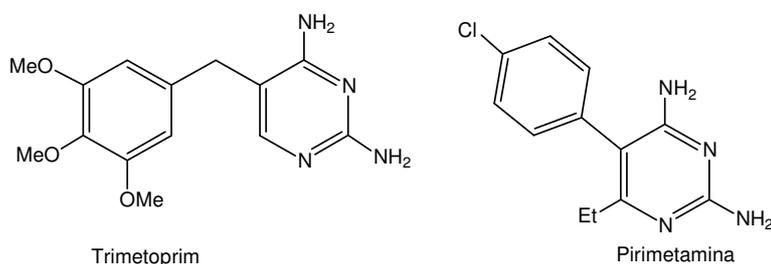
**Figura 8. Ejemplos de pirimidinas.**

El anillo de pirazina se encuentra en el ácido aspergílico y la *Cypridina hilgendorffii*, que es responsable de la quimioluminiscencia de las luciérnagas. Las metoxipirazinas son componentes importantes de los aromas de muchas frutas y vegetales, como los chicharos y la pimienta, y también se encuentran en los vinos. Varias polialquilpirazinas son feromonas de insectos, por ejemplo la 2-etil-3,6-dimetilpirazina es el componente mayoritario de la feromona de la hormiga sudamericana (Figura 9).<sup>[19b]</sup>



**Figura 9. Ejemplos de pirazinas presentes en la naturaleza.**

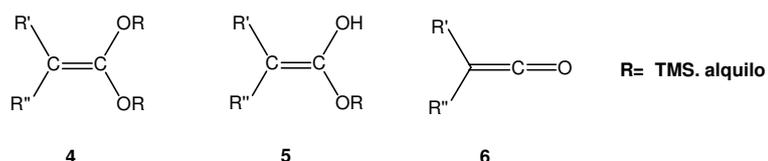
Los derivados de las diazinas son ampliamente investigados por su uso en fármacos sintéticos; entre los compuestos más comúnmente empleados están el antibacteriano Trimetoprim y el antimalárico Pirimetamina<sup>[19b]</sup> (Figura 10).



**Figura 10. Pirimidinas empleadas como fármacos.**

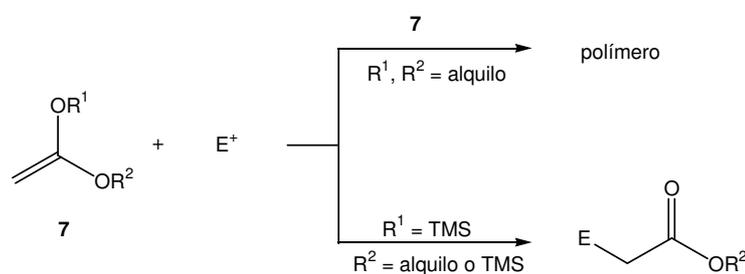
### 1.3 ACETALES DE BIS(TRIMETILSILIL)CETENA

Los acetales de cetena tienen la estructura general **4**, que representa el éter de la forma enólica de un éster **5**. Sin embargo, el nombre de estos compuestos se deriva de que pueden considerarse también como el acetal de una cetena **6**<sup>[20]</sup> (Figura 11).



**Figura 11.** Estructura de un acetal de cetena (**4**), de un éster de la forma enólica (**5**) y de una cetena (**6**).

Los acetales de cetena tienen dobles enlaces ricos en electrones y reaccionan fácilmente con varios tipos de electrófilos. La desventaja de los 1,1-dialcoxialquenos **7** ( $\text{R}^1, \text{R}^2 = \text{alquilo}$ ) es que polimerizan rápidamente mientras que los derivados 1,1-disililalquenos ( $\text{R}^1$  y/o  $\text{R}^2 = \text{TMS}$ ) usualmente producen los ácidos carboxílicos o los ésteres correspondientes, por pérdida de una unidad de  $\text{TMS}$ <sup>[21]</sup> (Esquema 9).

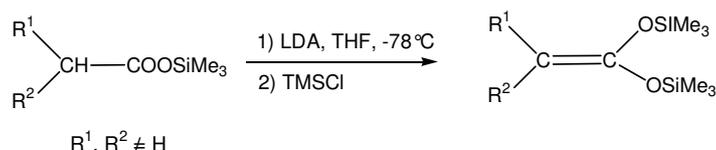


**Esquema 9**

Mukaiyama<sup>[22]</sup> en 1974 reportó reacciones aldólicas usando éteres de sililenol y compuestos carbonílicos en presencia de tetracloruro de titanio. Desde entonces los acetales de silicetena se han empleado en síntesis orgánica y hoy en día son los compuestos organosilanos elegidos para llevar a cabo condensaciones aldólicas, ya que son fáciles de preparar y altamente selectivos, además de que se comportan como excelentes nucleófilos.

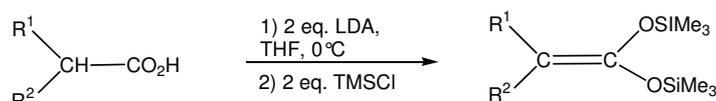
### 1.3.1 Síntesis

En 1972 Aisworth<sup>[23]</sup> describió por primera vez dos métodos de síntesis de los acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena, partiendo de ácidos carboxílicos saturados. El primero, a partir de ésteres de trimetilsilicio y el tratamiento con LDA seguido de TMSCl, que forma el correspondiente acetal de *bis*(trimetilsilil)cetena (Esquema 10).



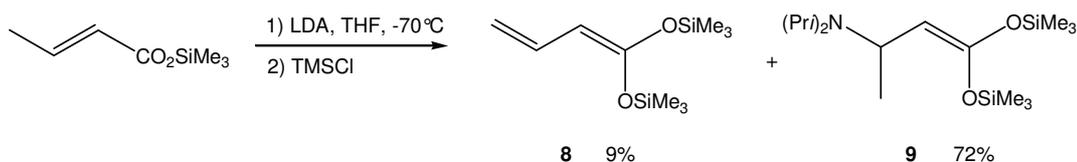
**Esquema 10**

El segundo método de síntesis involucra la formación del dianión del ácido carboxílico usando dos equivalentes de LDA y el tratamiento posterior con TMSCl (Esquema 11).



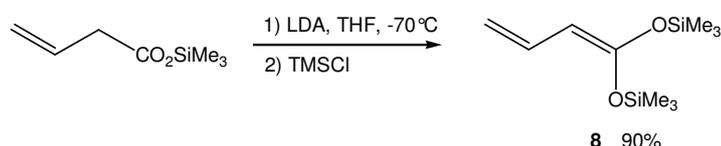
**Esquema 11**

En cuanto a los acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena de ácidos carboxílicos insaturados, Brady<sup>[24]</sup> sintetizó por primera vez con un rendimiento del 9% el 1,1-*bis*(trimetilsiloxi)buta-1,3-dieno **8** mediante la desprotonación del crotonato de trimetilsililo con LDA y la reacción del correspondiente enolato formado con TMSCl. El autor explica el bajo rendimiento debido a una competencia entre la C- y la O-sililación. De hecho, se ha demostrado que el compuesto **9** es el producto mayoritario que se forma de la adición del ión diisopropilamiduro al crotonato de trimetilsililo<sup>[25]</sup> (Esquema 12).



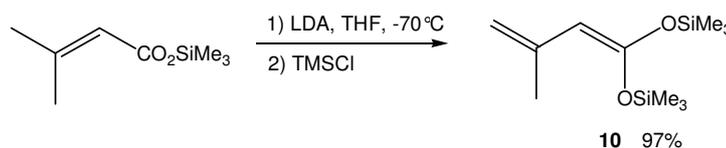
**Esquema 12**

Sin embargo, el compuesto **8** se puede preparar con buen rendimiento a partir de la reacción del vinilacetato de trimetilsililo con LDA. El doble enlace no conjugado evita una adición tipo Michael (Esquema 13).



Esquema 13

En contraste con el éster crotonico, el éster 3-metilbut-2-enoato de trimetilsililo forma el acetal **10** esperado en excelente rendimiento<sup>[26]</sup> (Esquema 14), el cual se explica por el impedimento estérico en el doble enlace que no favorece la reacción de Michael.

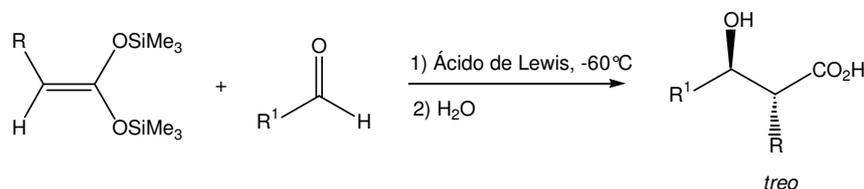


Esquema 14

### 1.3.2 Reactividad

#### 1.3.2.1 Síntesis de $\beta$ -hidroxiácidos

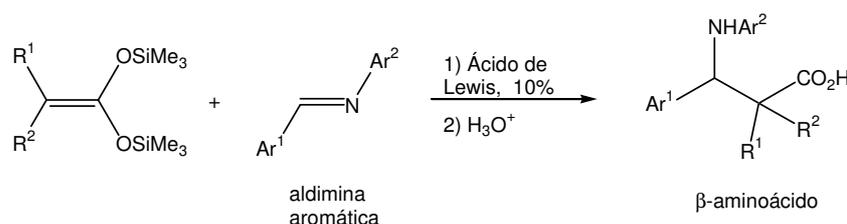
Los acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena reaccionan con aldehídos para dar  $\beta$ -hidroxiácidos en presencia de un ácido de Lewis.<sup>[27a]</sup> Bajo estas condiciones se forma exclusivamente el isómero *treo* (Esquema 15).



Esquema 15

### 1.3.2.2 Reacciones con iminas

Las reacciones de acetales de sililcetena con iminas se han empleado exitosamente para la síntesis de aminoésteres, lactamas y  $\beta$ -aminoácidos (Esquema 16). Algunas reacciones requieren cantidades catalíticas y otras equimolares de algún ácido de Lewis como  $ZnBr_2$  ó  $SnCl_4$ .<sup>[27b]</sup>



**Esquema 16**

## 1.4 PRUEBAS DE ACTIVIDAD BIOLÓGICA

### 1.4.1 Citotoxicidad

La citotoxicidad se emplea para medir los efectos tóxicos específicos, inhibición del crecimiento celular o bien muerte celular. Las células cancerosas se distinguen por tener un crecimiento incontrolable y la propiedad de invadir a otras células.

Un tumor canceroso maligno es aquel que invade tejidos circundantes a través del torrente sanguíneo o vasos linfáticos y forma tumores secundarios o metástasis en otros lugares del cuerpo.<sup>[28]</sup>

### 1.4.2 Inflamación

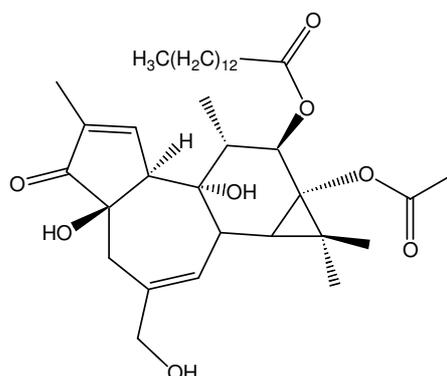
La inflamación es una respuesta fisiológica de defensa del organismo frente a una agresión o a cualquier estímulo perjudicial al tejido.<sup>[29a]</sup> Cuando se lesiona un tejido, ya sea por acción de las bacterias, un traumatismo, sustancias químicas, el calor u otros fenómenos, el tejido lesionado libera múltiples sustancias que provocan cambios

secundarios,<sup>[29b]</sup> generados con el fin de destruir al agente patógeno o para reconstruir el tejido dañado.

Generalmente, esta respuesta actúa para protegernos, pero ocasionalmente la inflamación es responsable de la mayoría de los síntomas de la enfermedad y es bajo estas circunstancias que es necesario recurrir a medicamentos para eliminar o reducir la intensidad de la respuesta inflamatoria.<sup>[30a]</sup>

La dermatitis es una inflamación de la piel, que se hace evidente por edema y eritema, infiltración de neutrófilos, aumento de la actividad de la enzima Mieloperoxidasa, aumento del tamaño del tejido de la epidermis.

Desde hace dos décadas existen varios modelos de inflamación de diferente naturaleza en el tejido cutáneo empleados en animales de experimentación. Cada uno se basa en el uso de un agente irritante aplicado directamente sobre la piel (*in situ*) o bien inyectado en la parte específica del organismo. El 13-acetato de 12-O-tetradecanoilforbol (TPA) es un agente irritante el cual produce una inflamación aguda y se utiliza para evaluar anti-inflamatorios esteroidales y no esteroidales (Figura 12).<sup>[30b]</sup>

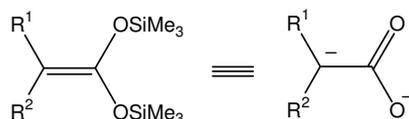


**Figura 12.** 13-Acetato de 12-O-tetradecanoilforbol (TPA).

## 1.5 ANTECEDENTES

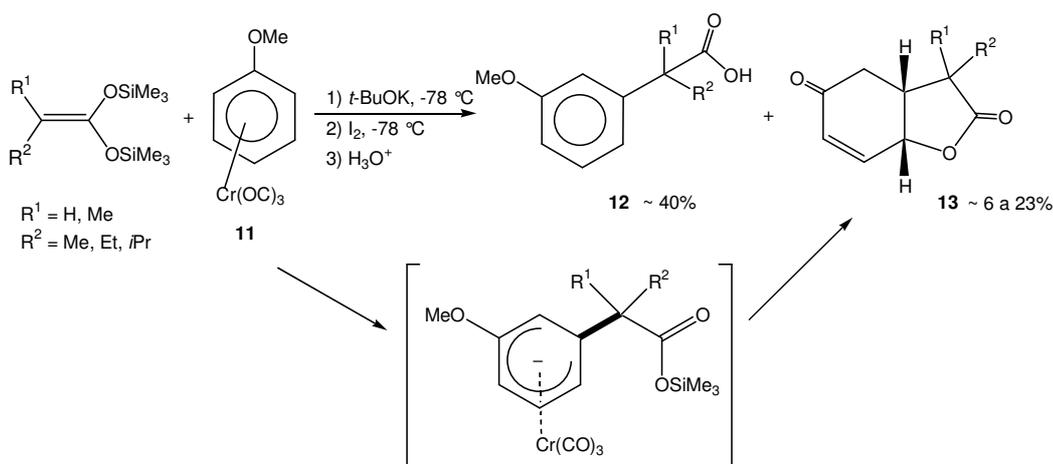
Las  $\gamma$ -lactonas funcionalizadas tienen propiedades biológicas importantes y también se emplean como materia prima para la síntesis de compuestos con actividad farmacológica.<sup>[31]</sup> Por tal motivo, se ha generado interés en la síntesis de esta clase de compuestos, prueba de ello son los numerosos reportes presentes en la literatura.

Por otra parte y debido a la reactividad especial de los acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena como dinucleófilos (Esquema 17), estos últimos pueden emplearse para preparar lactonas ya que tienen la capacidad de formar nuevos enlaces carbono-carbono y carbono-oxígeno,<sup>[32]</sup> a través de una reacción de adición a un doble enlace activado.<sup>[33]</sup>



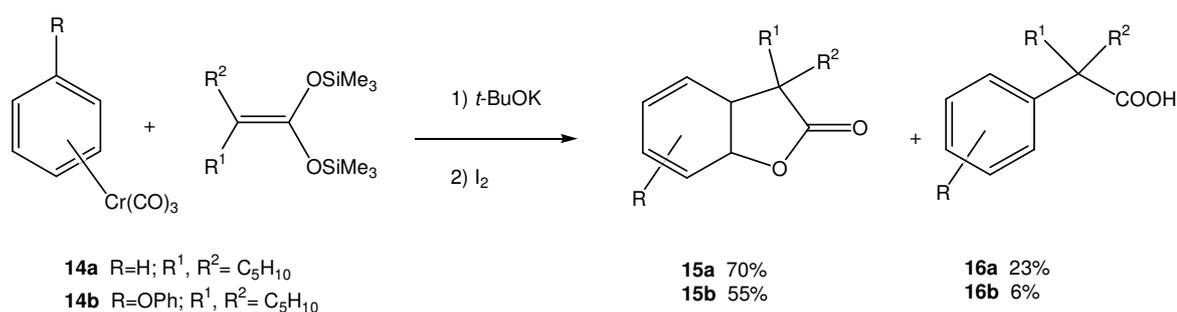
**Esquema 17**

Rudler<sup>[3]</sup> en 1999 reportó por primera vez la síntesis de lactonas utilizando los acetales de 1,1-*bis*(trimetilsilil)cetena con el complejo de  $\eta^6$ -anisoltricarbonilcromo **11** (Esquema 18). En esta reacción, además de la  $\gamma$ -lactona bicíclica **13**, se obtiene el ácido carboxílico **12** correspondiente como producto mayoritario. El primer paso de la reacción involucra el tratamiento del acetal de sililcetena y el complejo de cromo **11** con *t*-butóxido de potasio y posteriormente una oxidación con yodo.



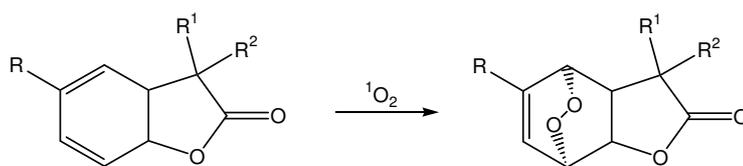
**Esquema 18**

Con base en lo anterior, en nuestro laboratorio se ha llevado a cabo la preparación de una gran variedad de lactonas a través de la adición de los acetales de *bis*(trimetilsilil) cetena a complejos  $\eta^6$ -arentricarbonilcromo (Esquema 19). En algunos casos se aisló el ácido aromático correspondiente, observándose que se forma como producto de rearomatización del sistema durante el proceso de purificación.<sup>[4a]</sup>



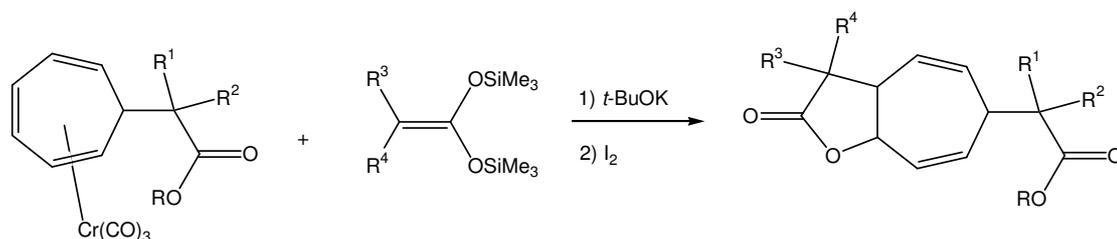
Esquema 19

Buscando funcionalizar el dieno de las lactonas obtenidas, una de las reacciones llevadas a cabo fue la adición de oxígeno singulete para preparar peroxolactonas (Esquema 20) y realizar estudios de actividad citotóxica. Este tipo de compuestos mostró que los valores de Cl<sub>50</sub> son mejores para algunas peroxolactonas que los que tiene el *cis*-platino.<sup>[4b]</sup>



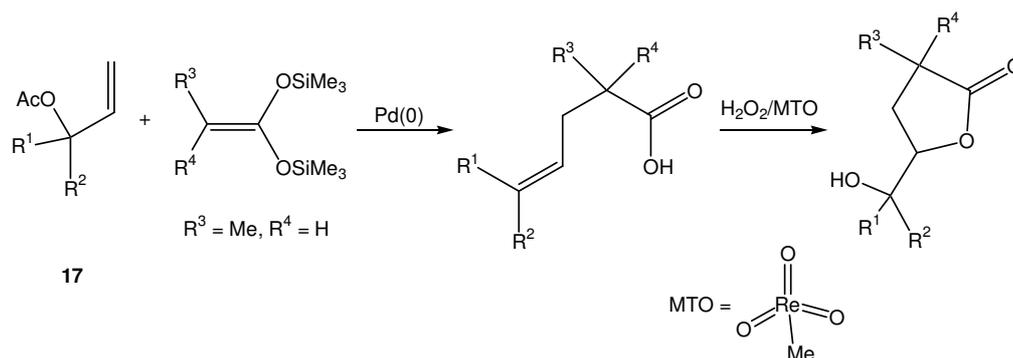
Esquema 20

También es posible formar  $\gamma$ -lactonas con el anillo de cicloheptatrieno activado con la presencia del tricarbonilcromo,<sup>[34]</sup> estos complejos llevan a cabo una doble adición nucleofílica de los acetales de *bis*(trimetilsilil) cetena (Esquema 21). Es importante destacar que las condiciones de lactonización son las mismas que para los complejos  $\eta^6$ -arentricarbonilcromo.



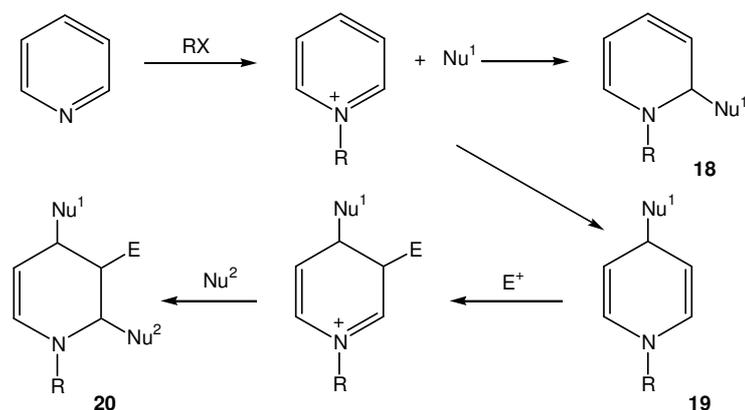
Esquema 21

Además de la formación de lactonas con complejos de cromo, Rudler<sup>[2]</sup> desarrolló una reacción catalizada con paladio(0), a partir de acetatos alílicos de *bis*(trimetilsilil)cetena y acetatos alílicos **17** formando ácidos carboxílicos insaturados que se transforman a  $\gamma$ -lactonas por tratamiento con  $H_2O_2$  en presencia de cantidades catalíticas de metiltroxorenio (MTO) (Esquema 22).



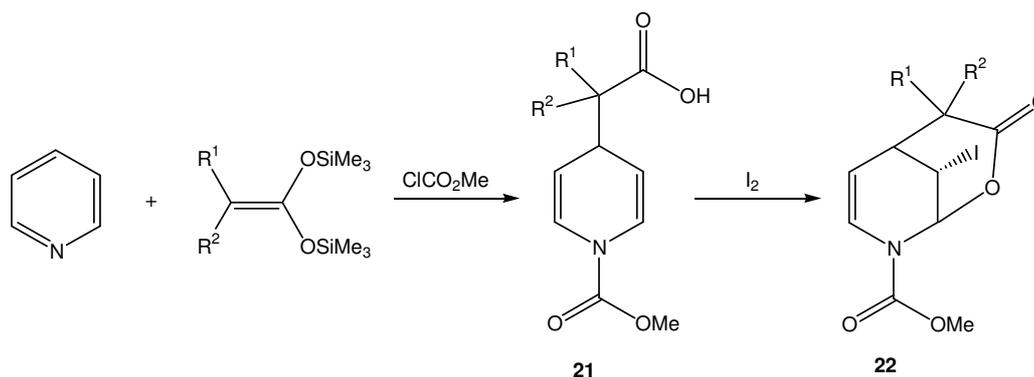
Esquema 22

Por otra parte, en el caso de los compuestos azaaromáticos, es posible preparar lactonas sin el uso de algún metal.<sup>[5]</sup> Se sabe que los dobles enlaces de la piridina se activan hacia la adición nucleofílica mediante la formación de una sal de piridinio, por ejemplo la sal de 1-acilpiridinio,<sup>[33]</sup> que reacciona con una gran variedad de nucleófilos para formar dihidropiridinas. Las dihidropiridinas **18** y **19** formadas pueden volver a activarse para experimentar una segunda adición nucleofílica y de esta forma obtener tetrahidropiridinas **20** (Esquema 23).



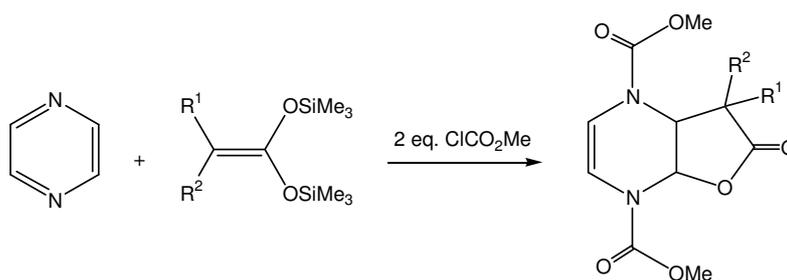
Esquema 23

Rudler<sup>[35]</sup> en 2002 reportó la síntesis de  $\gamma$ -yodo- $\delta$ -lactonas usando los acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena y la piridina activada con cloroformiato de metilo. Primero se forman los ácidos  $\alpha$ -dihidropiridinilcarboxílicos **21** que con el tratamiento posterior con un exceso de  $I_2$  forman las  $\delta$ -lactonas policíclicas **22** (Esquema 24).



Esquema 24

Extendiendo este concepto a otros N-heterociclos, se han reportado adiciones de acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena con pirazina.<sup>[36]</sup> La pirazina se activa con dos equivalentes de cloroformiato de metilo para reaccionar con el acetal de sililcetena y formar una  $\gamma$ -lactona bicíclica (Esquema 25). La síntesis directa de la lactona se debe a la doble activación de la pirazina y no es necesario emplear  $I_2$  como en el caso de los complejos de cromo y los compuestos azaaromáticos.

**Esquema 25**

Por tal motivo, en este trabajo se desarrolló la idea de llevar a cabo la preparación de lactonas empleando la pirimidina, además de la pirazina, pero activando el compuesto heterocíclico hacia la adición nucleofílica con el anhídrido trifluorometansulfónico, ya que con anterioridad en nuestro laboratorio se realizó la preparación de compuestos estructuralmente semejantes a las sulfonilamidas<sup>[37a]</sup> que mostraron actividad farmacológica debido a la presencia del grupo trifluorometansulfonilo.

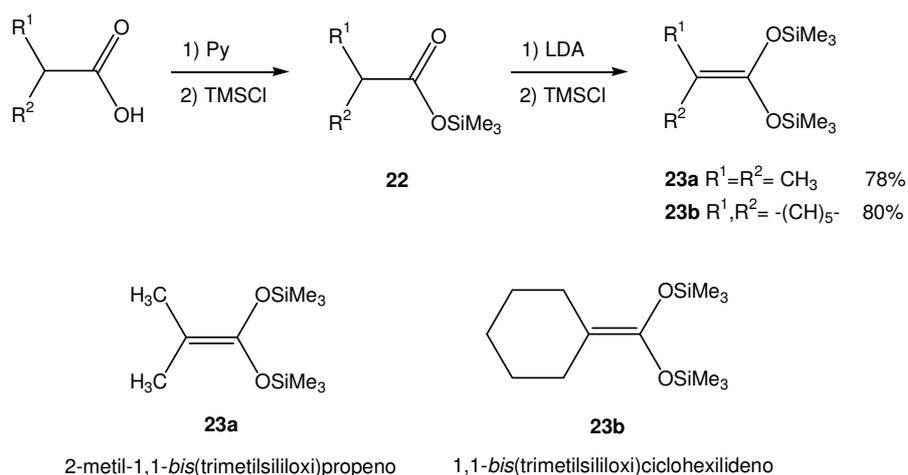
# **CAPÍTULO 2**

# **RESULTADOS Y**

# **DISCUSIÓN**

## 2.1 ACETALES DE 1,1-BIS(TRIMETILSILIL)CETENA EMPLEADOS

En este trabajo se utilizaron los acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena **23a** y **23b** que fueron sintetizados de acuerdo al método de dos pasos descrito por Ainsworth<sup>[23]</sup> (Esquema 26), el cual consiste en preparar primero el éster de trimetilsilano **22**, a partir del ácido carboxílico correspondiente y su tratamiento en presencia de piridina y clorotrimetilsilano. El compuesto **22** se purifica y aísla para llevar a cabo la segunda reacción con LDA y clorotrimetilsilano para formar el acetal de *bis*(trimetilsilil)cetena **23**. Los compuestos **23a** y **23b** se obtuvieron como líquidos incoloros con rendimientos alrededor del 80%.

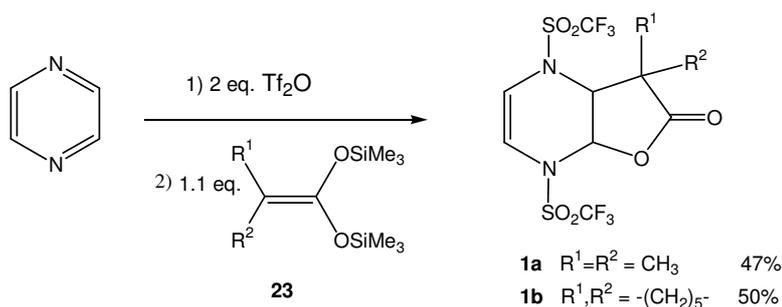


**Esquema 26**

Los ésteres de trimetilsililo y los acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena se caracterizaron por RMN <sup>1</sup>H y RMN <sup>13</sup>C.

## 2.2 DOBLE ADICIÓN NUCLEOFÍLICA DE ACETALES DE 1,1-BIS(TRIMETILSILIL)CETENA SOBRE LA PIRAZINA

Para llevar a cabo la reacción de adición nucleofílica sobre la pirazina, ésta se activó usando dos equivalentes del anhídrido trifluorometansulfónico formando la sal correspondiente, el disolvente utilizado fue diclorometano. Posteriormente, se hace reaccionar 1.1 equivalentes del acetal de *bis*(trimetilsilil)cetena para preparar la  $\gamma$ -lactona **1**, la reacción se presenta en el Esquema 27. Después de 12 horas de agitación, la mezcla de reacción se lava con agua para eliminar el anhídrido que no reaccionó y una vez concentrada la fase orgánica los compuestos de interés se purificaron mediante cromatografía en columna, obteniéndose como sólidos blancos cristalinos. Los rendimientos de **1a** y **1b** fueron de 47 y 50%, respectivamente.

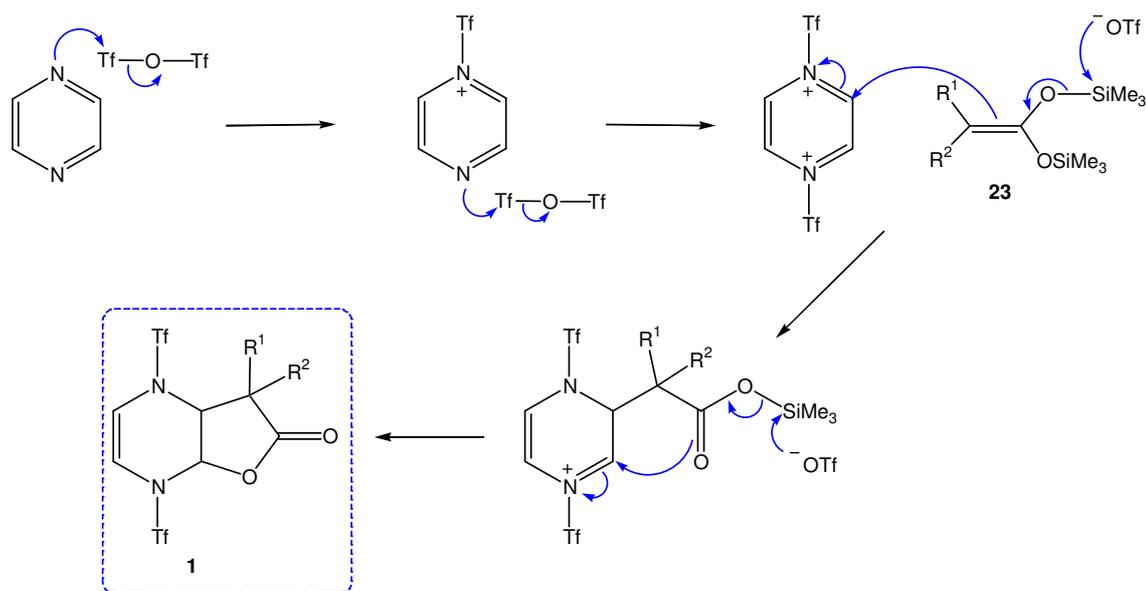


**Esquema 27**

Es importante destacar que se empleó el anhídrido trifluorometansulfónico con la finalidad de incorporar el grupo trifluorometansulfonilo a la estructura de las nuevas  $\gamma$ -lactonas, ya que existen diversos ejemplos en la literatura<sup>[37b]</sup> donde la presencia de este grupo contribuye al incremento de la actividad biológica.

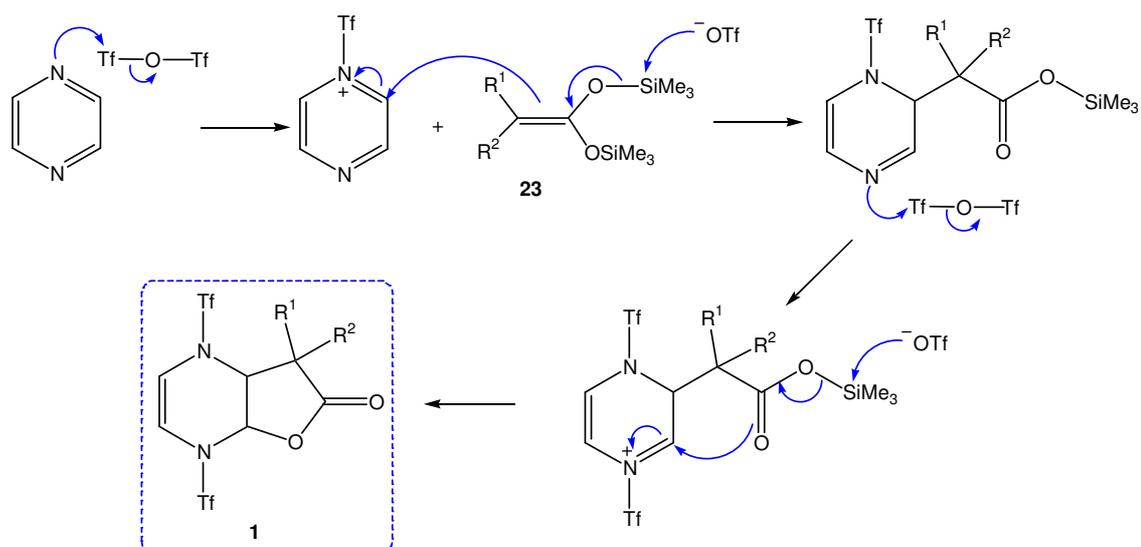
Para la formación de **1** se proponen dos posibles mecanismos de reacción que se describen a continuación.

En el primer mecanismo propuesto, la pirazina y el anhídrido trifluorometansulfónico reaccionan para formar la sal *bis*(trifluorometansulfoniliminio) que reacciona con el acetal de *bis*(trimetilsilil) cetena a través de una doble adición nucleofílica, formándose primero un enlace carbono-carbono y, después del segundo ataque, el enlace carbono-oxígeno (Esquema 28).



Esquema 28

En el segundo mecanismo propuesto, la pirazina se activa por primera vez con el anhídrido trifluorometansulfónico y reacciona con el acetal de *bis*(trimetilsilil) cetena formándose un enlace carbono-carbono como resultado del primer ataque nucleofílico. En el siguiente paso, la pirazina vuelve a activarse con otra molécula del anhídrido trifluorometansulfónico presente en el medio y es entonces cuando ocurre un segundo ataque nucleofílico para formar el enlace carbono-oxígeno (Esquema 29).



Esquema 29

En ambas propuestas el cierre del anillo de la lactona genera la  $\gamma$ -lactona, lo que es congruente con las reglas de anillación de Baldwin, dado que en un sistema trigonal se prefiere el cierre del anillo 5-exo con respecto al 6-endo.<sup>[38]</sup>

En la Tabla 2 se encuentran los rendimientos, puntos de fusión y masas moleculares de las lactonas **1a** y **1b**.

**Tabla 2.** Rendimiento, punto de fusión y PM de **1**.

| Compuesto | R <sup>1</sup>                     | R <sup>2</sup>  | Peso molecular (g/mol) | Punto de fusión (°C) | Rendimiento (%) |
|-----------|------------------------------------|-----------------|------------------------|----------------------|-----------------|
| <b>1a</b> | CH <sub>3</sub>                    | CH <sub>3</sub> | 432.32                 | 128                  | 46.7            |
| <b>1b</b> | -(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> - |                 | 472.13                 | 111                  | 48.8            |

La caracterización de los nuevos compuestos **1a** y **1b** se realizó con las técnicas espectroscópicas de IR, RMN <sup>1</sup>H, RMN <sup>13</sup>C y EM, confirmando la formación de la  $\gamma$ -lactona bicíclica con la pirazina.

A continuación se discutirán los datos espectroscópicos que permitieron confirmar la síntesis de las lactonas. En cada una de las técnicas se ejemplifica con los espectros del compuesto **1a** dado que **1b** es prácticamente similar.

En el espectro de IR se observa la presencia de la banda C=O para **1a** en  $1809\text{ cm}^{-1}$  y para **1b** en  $1799\text{ cm}^{-1}$  que confirman la formación de la  $\gamma$ -lactona, de acuerdo con lo reportado en la literatura la vibración del enlace del grupo carbonilo de una lactona de cinco miembros esta aproximadamente en el rango de  $1795$  a  $1760\text{ cm}^{-1}$ . Además la banda del enlace sencillo C-O para **1a** y **1b** se encuentra en  $1417$  y  $1412\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente. Por otra parte, la banda presente alrededor de  $3130\text{ cm}^{-1}$  corresponde a la vibración H-C=. Las bandas de absorción asociadas al grupo trifluorometansulfonilo ( $\text{SO}_2\text{CF}_3$ ) se observan para  $\text{SO}_2$  en  $1230$  y  $1145\text{ cm}^{-1}$  y para  $\text{CF}_3$  corresponden las bandas en  $1196$  y  $670\text{ cm}^{-1}$ . En la Figura 13 se encuentra el espectro de infrarrojo de la  $\gamma$ -lactona **1a**.

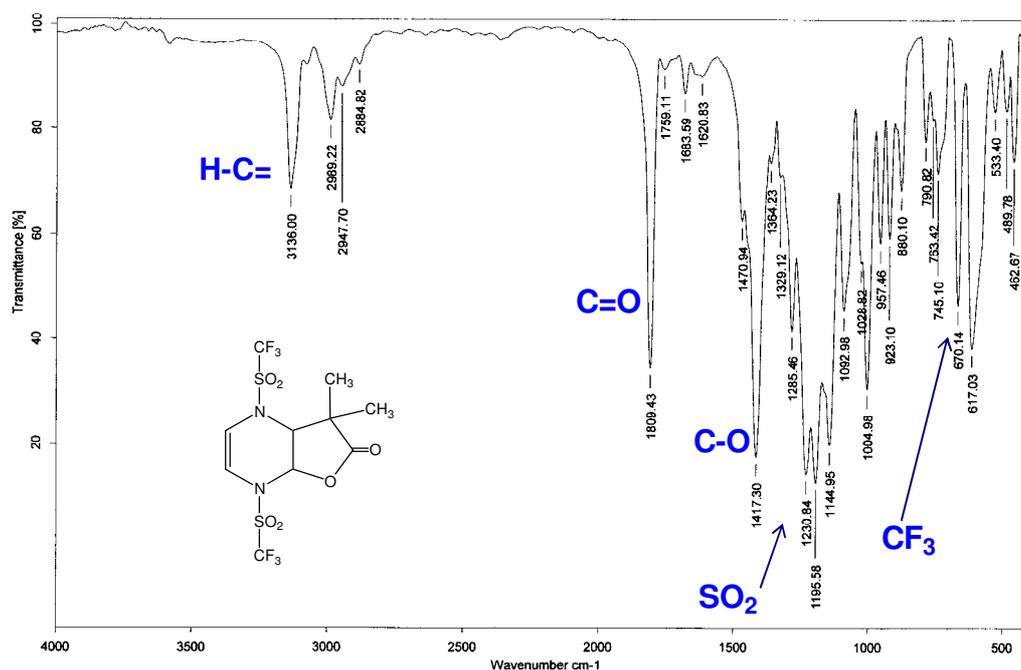


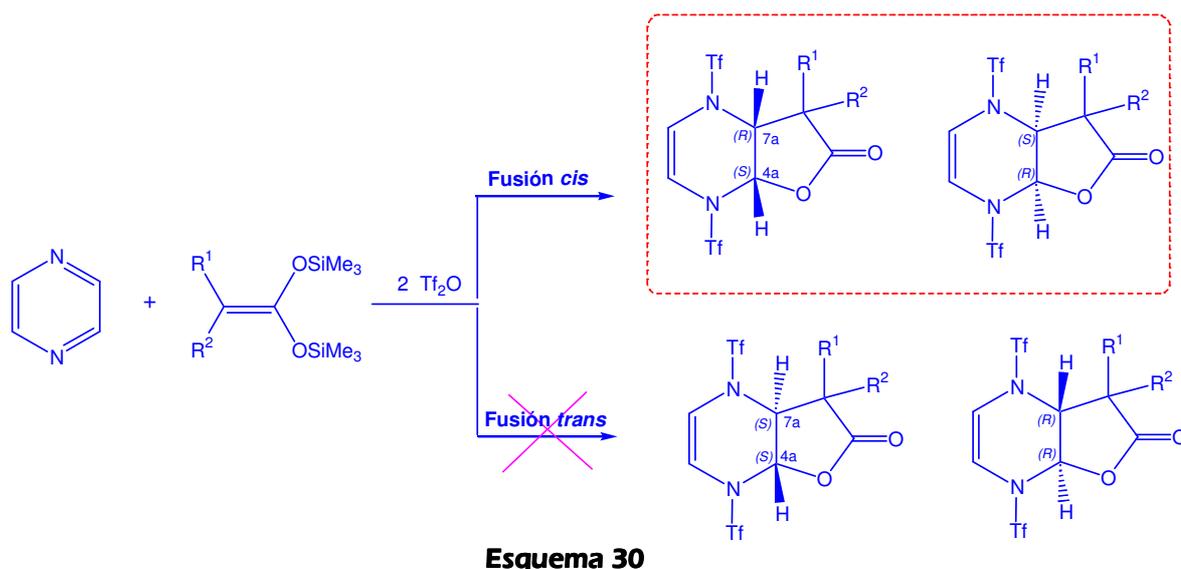
Figura 13. Espectro de IR (película) de **1a**.

Las señales de RMN  $^1\text{H}$  para los protones de la fusión de la lactona y del doble enlace del núcleo de la pirazina se encuentran en la Tabla 3 (entre corchetes se indica el valor de la constante de acoplamiento).

**Tabla 3.** Desplazamientos químicos de RMN  $^1\text{H}$  para **1**.

| Compuesto | RMN $^1\text{H}$ $\delta$ (ppm)           |                    |                    |
|-----------|---|--------------------|--------------------|
|           | H2-C=C-H3                                 | H4a                | H7a                |
| <b>1a</b> | 6.41                                      | 6.22 [ $J = 8$ Hz] | 4.83 [ $J = 8$ Hz] |
| <b>1b</b> | 6.45 [ $J = 5$ Hz],<br>6.36 [ $J = 5$ Hz] | 6.16 [ $J = 8$ Hz] | 4.76 [ $J = 8$ Hz] |

Los protones del doble enlace en ambos compuestos aparecen alrededor de 6 ppm, en el caso de **1a** aparece una sola señal múltiple que integra para dos hidrógenos; sin embargo, para **1b** se distingue perfectamente dos señales dobles con una constante de acoplamiento igual a 5 Hz. Las señales para H4a y H7a, representativas de la fusión de la lactona, se encuentran en  $\sim 6.2$  y  $\sim 4.8$  ppm, respectivamente, el valor de  $J$  para estos dos protones es de 8 Hz lo cual nos dice que la fusión de lactona se da en forma *cis* concordando con lo reportado en la literatura.<sup>[33]</sup> Del análisis anterior podemos concluir que únicamente se forman dos estereoisómeros de los cuatro posibles (Esquema 30), indicando que el dinucleófilo **23** prefiere adicionarse del mismo lado de una las caras de la pirazina activada. La configuración de los estereoisómeros obtenidos es 4a(S)-7a(R) y 4a(R)-7a(S).



En la Figura 14 se muestra el espectro de RMN  $^1\text{H}$  para el compuesto **1a**, señalándose a qué protones corresponde cada una de las señales. En el espectro se puede observar dos señales alrededor de 1.3 ppm que corresponden a los protones de los grupos metilo, aunque se espera una sola señal por ser químicamente equivalentes, magnéticamente son diferentes.

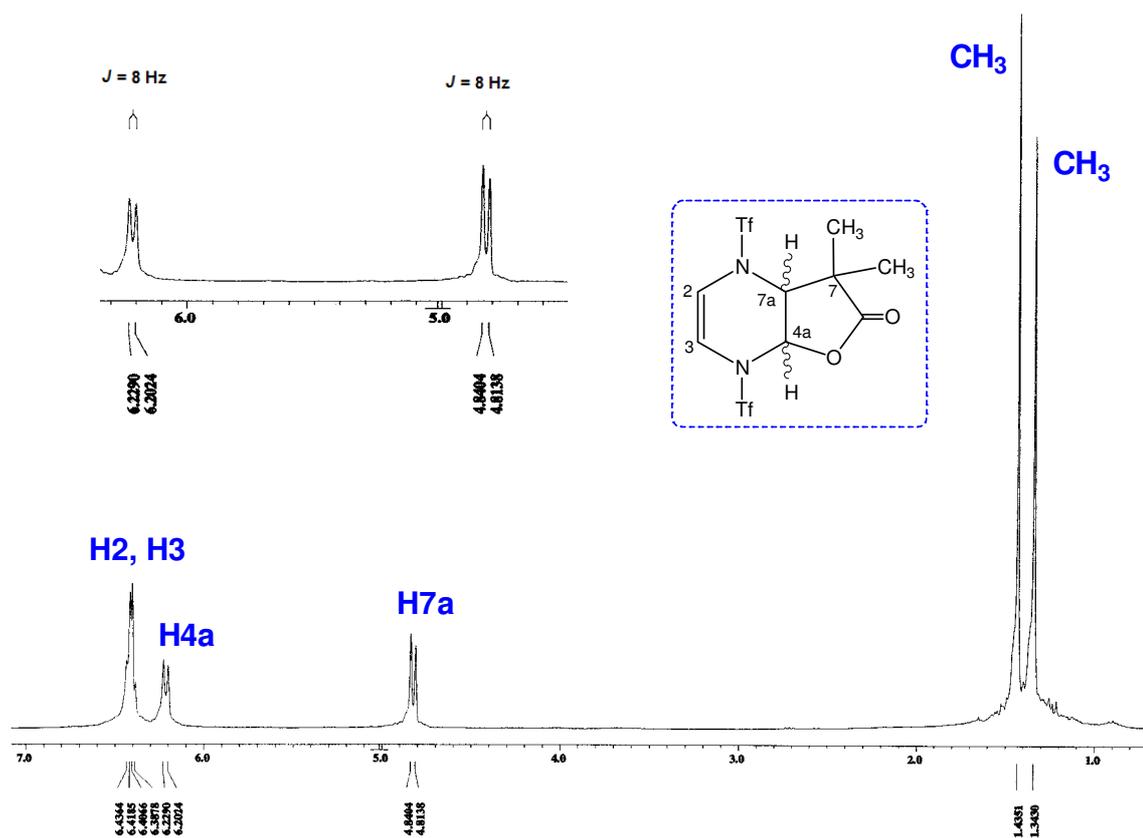


Figura 14. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) de **1a**.

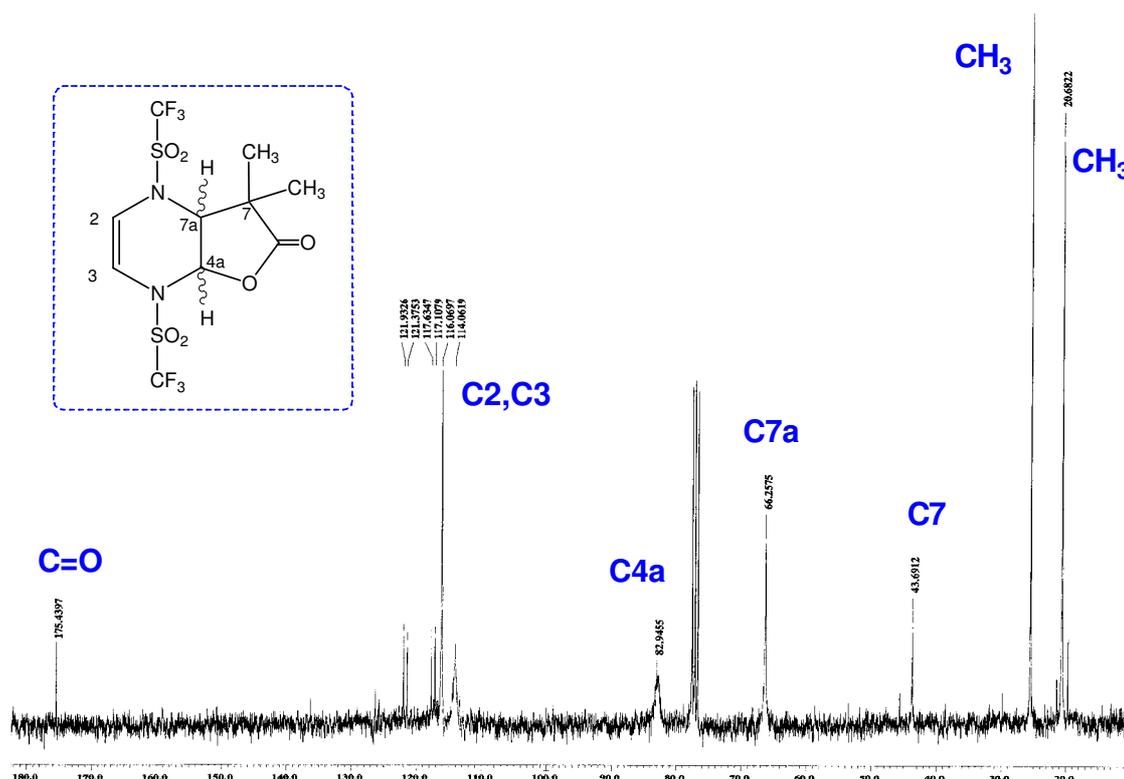
En lo que respecta al análisis de RMN  $^{13}\text{C}$ , la señal del grupo carbonilo para **1a** aparece en 175.4 ppm y para **1b** en 173.2 ppm, que muestran la presencia de la  $\gamma$ -lactona (el valor reportado para la  $\gamma$ -butirolactona es de 177.9 ppm). Además, la presencia del enlace carbono-oxígeno (C4a) se confirma por la señal en  $\sim 80$  ppm y la señal debida a la formación del enlace carbono-carbono (C7a) se encuentra en  $\sim 66$  ppm; las señales de los carbonos con hibridación  $\text{sp}^2$  se localizan alrededor de 116 ppm. Finalmente, se esperan dos cuartetos para los átomos de carbono de los grupos  $\text{CF}_3$ , sin embargo, no fue posible apreciarlos con claridad por la señal de uno de los carbonos del doble enlace, no obstante con los datos obtenidos pudimos determinar su

desplazamiento químico ubicándose uno en 119.8 ppm ( $J = 322$  Hz) y el otro en 119.2 ppm ( $J = 320$  Hz).

En la Tabla 4 se reportan los desplazamientos químicos de los átomos de carbono de la fusión de la lactona, del doble enlace restante en el núcleo de la pirazina y del grupo carbonilo para los compuestos **1a** y **1b**. En la Figura 15 se presenta el espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de **1a**.

**Tabla 4.** Desplazamientos químicos característicos de RMN  $^{13}\text{C}$  para **1**.

| Compuesto | RMN $^{13}\text{C}$ $\delta$ (ppm) |      |      |       |
|-----------|------------------------------------|------|------|-------|
|           | -C2=C3-                            | C4a  | C7a  | C=O   |
| <b>1a</b> | 116.1                              | 82.9 | 66.3 | 175.4 |
| <b>1b</b> | 117.6, 113.9                       | 82.9 | 67.3 | 173.2 |



**Figura 15.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) de **1a**.

El análisis de espectrometría de masas mostró los iones moleculares en 432 y 472  $m/z$  que concuerdan con la masa molecular de las lactonas **1a** (Figura 16) y **1b**, respectivamente. Primero se observa la pérdida del fragmento  $\text{SO}_2\text{CF}_3$  (133  $m/z$ ) formándose el pico base para ambas lactonas; posteriormente, se pierde  $\text{CO}_2$  (44  $m/z$ ); y por último la pérdida del fragmento  $\text{R}^1\text{R}^2\text{C}$  que para la lactona **1a** equivale 42  $m/z$  y para **1b** se pierden 82  $m/z$ . Por otra parte, para el compuesto **1a**, se calculó la distribución isotópica<sup>[39]</sup> de los picos más significativos descritos anteriormente (Tabla 5) para corroborar la formación del nuevo compuesto.

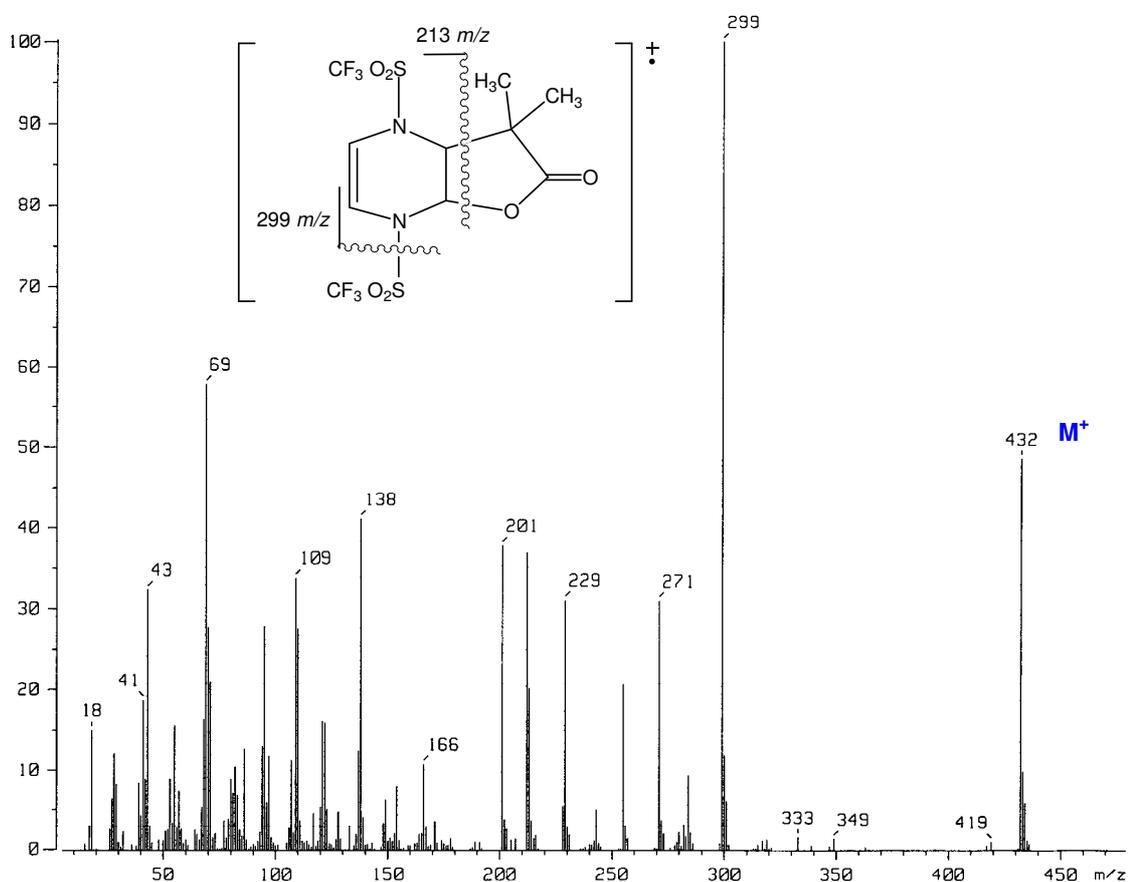


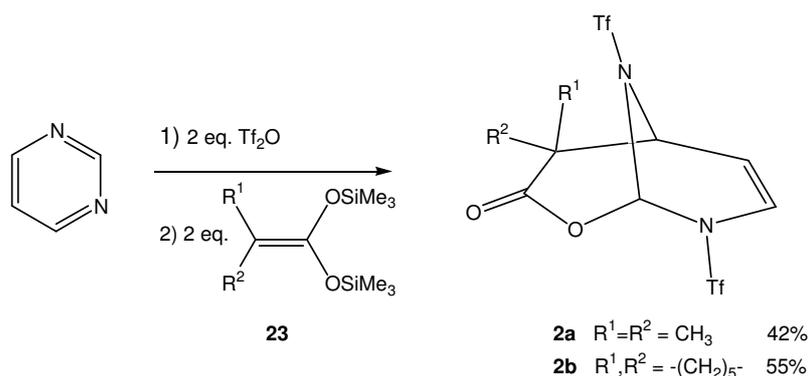
Figura 16. Espectro de Masas ( $\text{IE}^+$ ) de **1a**.

**Tabla 5.** Distribución isotópica de los picos más significativos de **1a**.

| Fragmento   | <i>m/z</i> | Intensidad   |
|---|------------|--------------|
| [C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> F <sub>6</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub> S <sub>2</sub> ] <sup>‡</sup> | <b>432</b> | <b>100.0</b> |
|   | 433        | 13.5         |
|   | 434        | 10.8         |
|   | 435        | 1.1          |
|   | 436        | 0.2          |
| [C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> F <sub>3</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub> S] <sup>‡</sup>                | <b>299</b> | <b>100.0</b> |
|   | 300        | 11.5         |
|   | 301        | 5.7          |
| [C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> F <sub>3</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> S] <sup>‡</sup>                | <b>255</b> | <b>100.0</b> |
|   | 256        | 10.3         |
|   | 257        | 5.2          |
|   | 258        | 0.4          |
| [C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> F <sub>3</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> S] <sup>‡</sup>                 | <b>213</b> | <b>100.0</b> |
|   | 214        | 6.9          |
|   | 215        | 4.9          |
|   | 216        | 0.2          |

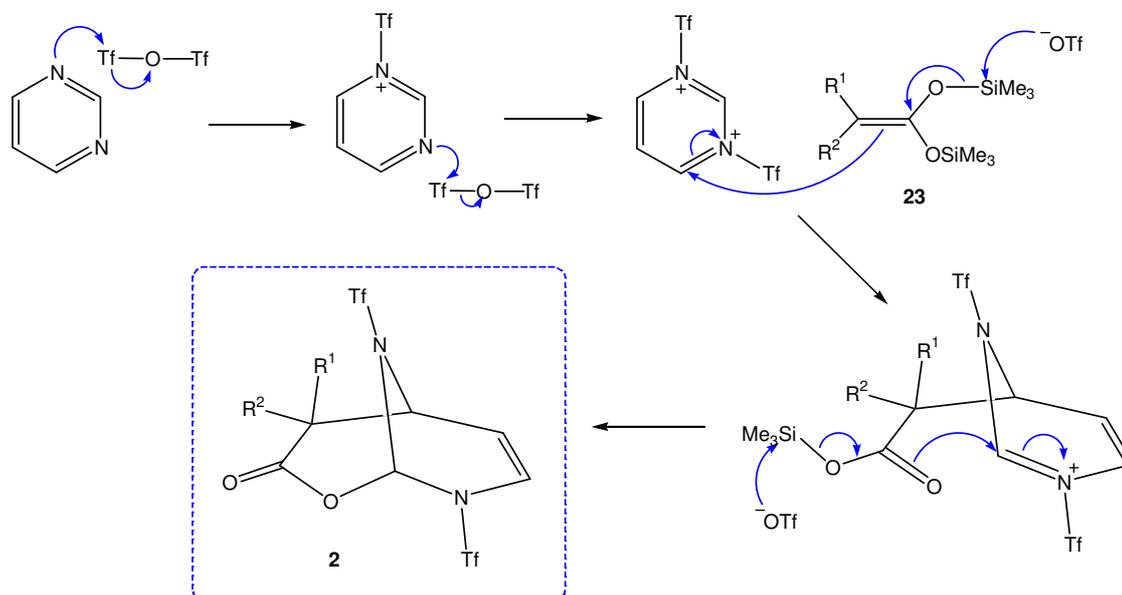
### 2.3 DOBLE ADICIÓN NUCLEOFÍLICA DE ACETALES DE 1,1-*BIS*(TRIMETILSILIL)CETENA SOBRE LA PIRIMIDINA

Como en el caso de pirazina y con la finalidad de activar la pirimidina al ataque nucleofílico se adicionaron dos equivalentes de Tf<sub>2</sub>O para formar la sal correspondiente. Una vez formada esta sal, se agregaron dos equivalentes del acetal de *bis*(trimetilsilil)cetena (Esquema 30). Después de 12 horas de agitación la mezcla de reacción se lavó con agua para eliminar el anhídrido que no reaccionó y una vez concentrada la fase orgánica los nuevos compuestos se purificaron por cromatografía en columna obteniéndose como sólidos blancos cristalinos. Los rendimientos de **2a** y **2b** fueron de 42 y 55%, respectivamente.



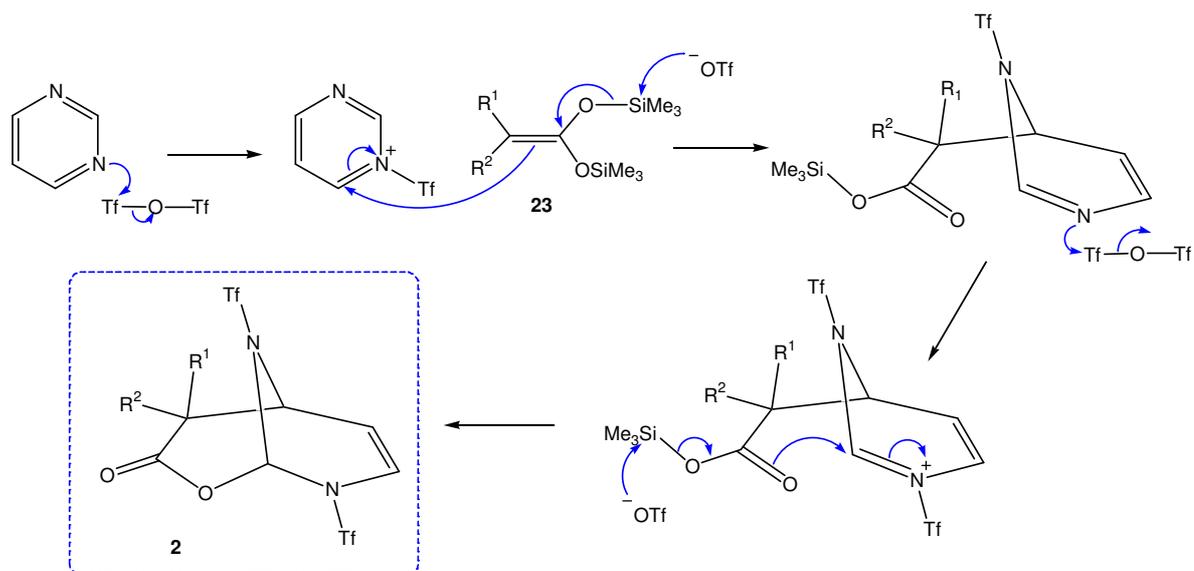
Esquema 30

De igual forma que con la pirazina, se proponen dos mecanismos de reacción. En el primer mecanismo propuesto se forma la sal *bis*(trifluorometansulfoniliminio) a partir de la pirimidina y dos equivalentes del anhídrido trifluorometánsulfónico, posteriormente el intermediario doblemente activado reacciona nucleofílicamente con el acetal de sililcetena formando un enlace sencillo carbono-carbono y en seguida el enlace carbono-oxígeno (Esquema 31).



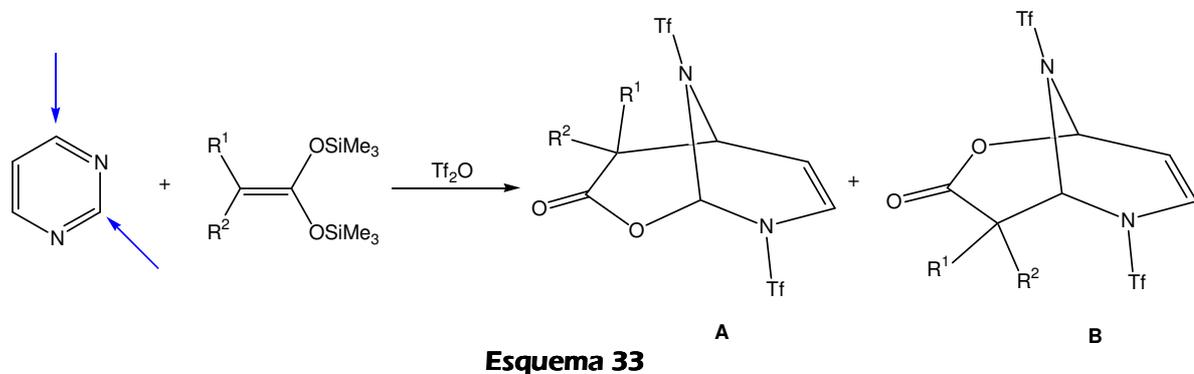
Esquema 31

En el segundo mecanismo de reacción propuesto para la síntesis de **2a** y **2b**, la pirimidina se activa primeramente con una molécula del anhídrido trifluormetansulfónico y es entonces cuando **23** se adiciona nucleofílicamente formando un primer enlace carbono-carbono. En seguida, la pirimidina vuelve a activarse con otra molécula de anhídrido trifluoromentansulfónico presente en el medio y ocurre la segunda adición nucleofílica en el átomo de carbono vecino a los dos nitrógenos formándose el enlace carbono-oxígeno (Esquema 32).



Esquema 32

Existen dos sitios posibles de ataque en la pirimidina (Esquema 33) por lo cual se podrían obtener las lactonas **A** y **B**, sin embargo los resultados muestran que se forma únicamente la lactona **A**.<sup>[40]</sup>



Esquema 33

En la Tabla 6 se encuentran los rendimientos, puntos de fusión y masas moleculares de las lactonas **2a** y **2b**.

**Tabla 6.** Rendimiento, punto de fusión y PM de **2**.

| Compuesto | R <sup>1</sup>                     | R <sup>2</sup>  | Peso molecular (g/mol) | Punto de fusión (°C) | Rendimiento (%) |
|-----------|------------------------------------|-----------------|------------------------|----------------------|-----------------|
| <b>2a</b> | CH <sub>3</sub>                    | CH <sub>3</sub> | 432.32                 | 78                   | 42.1            |
| <b>2b</b> | -(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> - |                 | 472.13                 | 88                   | 54.6            |

La caracterización de los nuevos compuestos sintetizados se llevó a cabo a través de las técnicas espectroscópicas de IR, RMN <sup>1</sup>H, RMN <sup>13</sup>C, EM y difracción de rayos-X, cuando fue posible obtener un monocristal. Los datos espectroscópicos para cada compuesto se detallan en la parte experimental. A continuación se mencionan algunos datos espectroscópicos que permitieron demostrar la formación de **2**, ejemplificándose con los espectros de **2a** debido a que **2b** es prácticamente similar.

En la Tabla 7 se muestran las bandas de IR que confirman la síntesis de los compuestos **2**. La vibración de un enlace C=O en ~ 1775 cm<sup>-1</sup> que coincide con el valor esperado para una lactona de seis miembros; la banda característica de la vibración H-C= aparece en ~ 3110 cm<sup>-1</sup>; las bandas de absorción asociadas al grupo SO<sub>2</sub>CF<sub>3</sub> se observan para SO<sub>2</sub> una banda intensa en ~1230 cm<sup>-1</sup> y para CF<sub>3</sub> corresponden las bandas en ~1160 y 690 cm<sup>-1</sup>. En la Figura 17 se presenta el espectro de IR de **2a**.

**Tabla 7.** Desplazamiento de las bandas en los espectros de IR para **2**.

| Señal           | <b>2a</b>                  | <b>2b</b>                  |
|-----------------|----------------------------|----------------------------|
| H-C=            | 3110 cm <sup>-1</sup>      | 3112 cm <sup>-1</sup>      |
| C=O (lactona)   | 1775 cm <sup>-1</sup>      | 1775 cm <sup>-1</sup>      |
| C-O             | 1416 cm <sup>-1</sup>      | 1421 cm <sup>-1</sup>      |
| SO <sub>2</sub> | 1231 cm <sup>-1</sup>      | 1220 cm <sup>-1</sup>      |
| CF <sub>3</sub> | 1161, 699 cm <sup>-1</sup> | 1144, 695 cm <sup>-1</sup> |

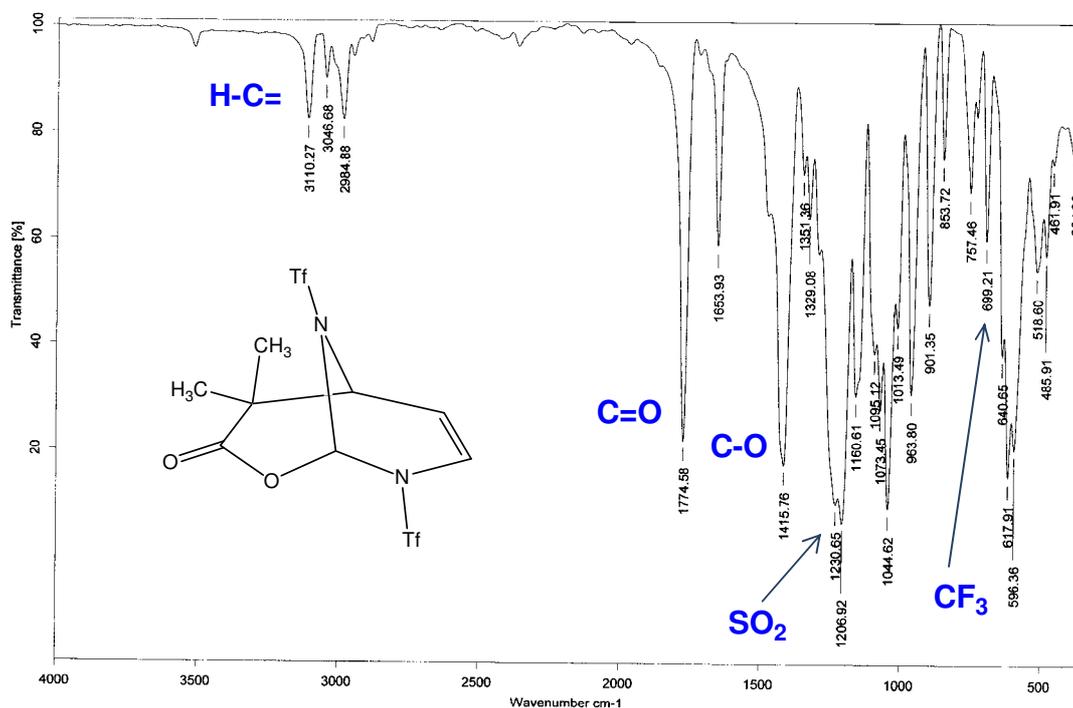


Figura 17. Espectro de IR (película) de 2a.

Las señales de RMN <sup>1</sup>H se presentan en la Tabla 8 (entre corchetes se indica el valor de la constante de acoplamiento). Las señales de los protones del doble enlace en ambos compuestos aparecen alrededor de 5.5 y 6.6 ppm, para H6 se observa una señal doble de doble con valores de *J* de 5 Hz y 9 Hz que indica su interacción con H7 (*J* = 9 Hz) y H5 (*J* = 5 Hz), mientras que H7 por su interacción con H6 se observa como una señal doble; los protones característicos de la fusión de la lactona se encuentran en ~ 7 ppm (H1) como un singulete y en ~ 4.5 ppm (H5) como un doblete por la interacción con el protón del doble enlace H6. En la figura 18 se presenta el espectro de RMN <sup>1</sup>H de 2a.

Tabla 8. Desplazamientos químicos de RMN <sup>1</sup>H para 2.

| Compuesto | RMN <sup>1</sup> H δ (ppm) |                         |      |                         |
|-----------|----------------------------|-------------------------|------|-------------------------|
|           | H6                         | H7                      | H1   | H5                      |
| 2a        | 5.59 [ <i>J</i> = 9, 5 Hz] | 6.67 [ <i>J</i> = 9 Hz] | 7.14 | 4.26 [ <i>J</i> = 5 Hz] |
| 2b        | 5.56 [ <i>J</i> = 9, 5 Hz] | 6.67 [ <i>J</i> = 9 Hz] | 7.09 | 4.6 [ <i>J</i> = 5 Hz]  |

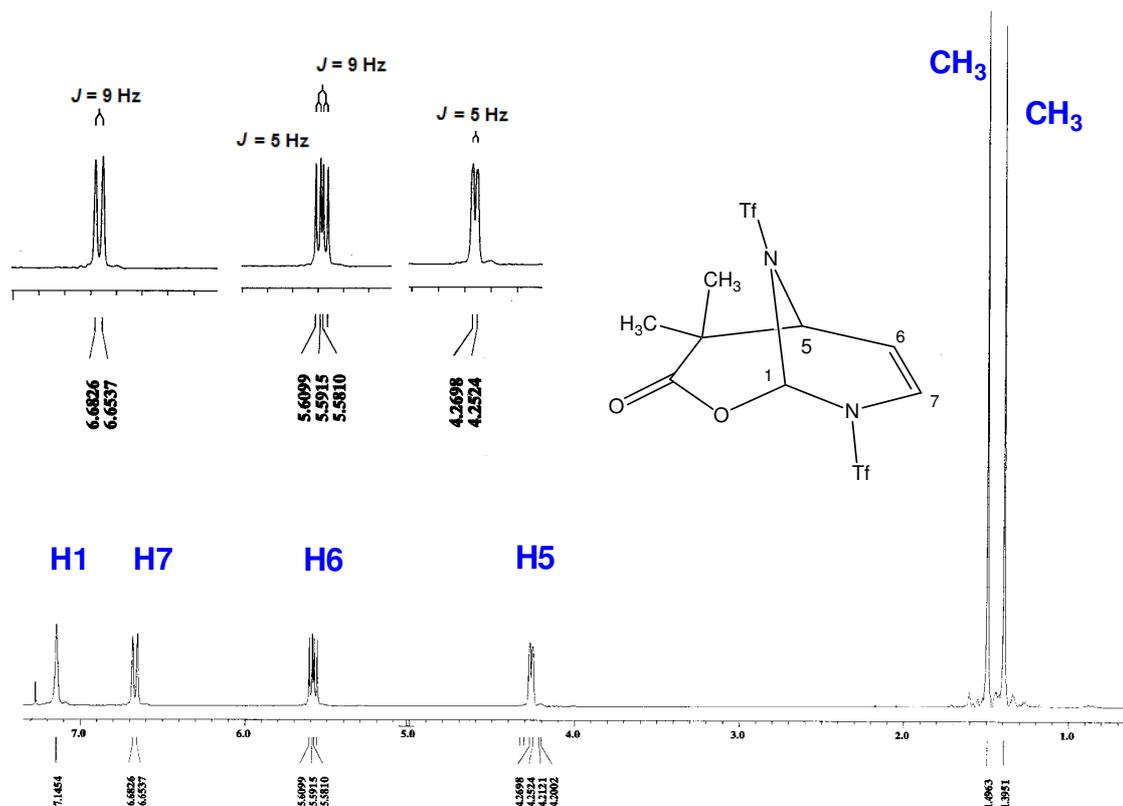
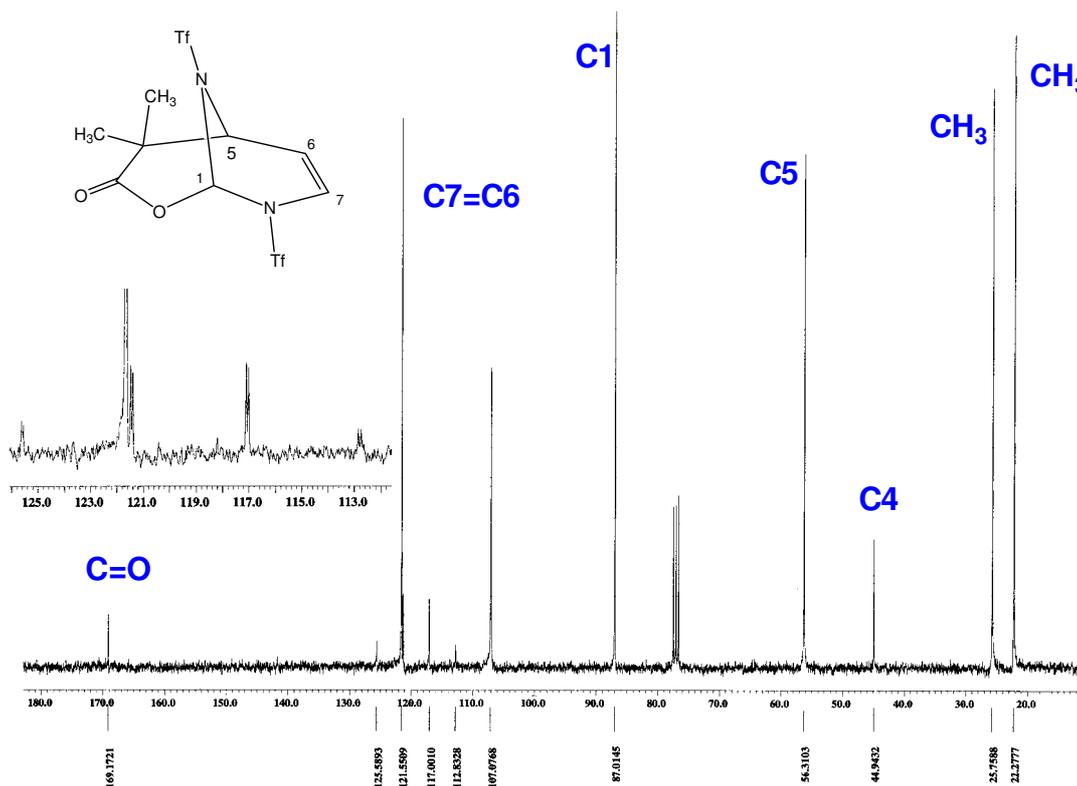


Figura 18. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) de **2a**.

Los espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  para las lactonas **2a** y **2b** presentan la señal característica del grupo carbonilo en  $\sim 169 \text{ ppm}$ ; las señales de los carbonos del doble enlace se encuentran en 121 ppm para C7 y en 107 ppm para C6 (las señales fueron asignadas de acuerdo a las tablas descritas en la literatura);<sup>[41]</sup> las señales representativas que confirman la formación de la lactona corresponden a C1 en  $\sim 87 \text{ ppm}$  y C5 en  $\sim 53 \text{ ppm}$ . Finalmente, las señales de los átomos de carbono de los grupos  $\text{CF}_3$  por no ser químicamente equivalentes se observan como dos cuartetos uno en 119.2 ppm ( $J = 319 \text{ Hz}$ ) y el otro en 119.1 ppm ( $J = 320 \text{ Hz}$ ). En la Tabla 9 se reportan los desplazamientos químicos de RMN  $^{13}\text{C}$  de la síntesis de **2** y en la Figura 19 el espectro de **2a**.

**Tabla 9.** Desplazamientos químicos representativos de RMN  $^{13}\text{C}$  para **2**.

| Compuesto | RMN $^{13}\text{C}$ $\delta$ (ppm) |              |      |      |
|-----------|------------------------------------|--------------|------|------|
|           | C=O                                | C7=C6        | C1   | C5   |
| <b>2a</b> | 169.2                              | 121.6, 107   | 87   | 56.3 |
| <b>2b</b> | 168.8                              | 121.4, 106.7 | 86.3 | 52.4 |


**Figura 19.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) de **2a**.

El análisis de espectrometría de masas por medio de la técnica de impacto electrónico mostró los iones moleculares esperados en 432 y 472  $m/z$  que concuerdan con la masa molecular de las lactonas **2a** y **2b**, respectivamente. El pico base corresponde al fragmento  $(\text{CO})\text{CR}^1\text{R}^2$  (Figura 20) en 70  $m/z$  para **2a** y en 110  $m/z$  para **2b**, el pico en 299  $m/z$  se forma a partir del ión molecular tras la pérdida del grupo trifluorometansulfonilo. Por otra parte, para el compuesto **2a**, se calculó la distribución isotópica<sup>[39]</sup> de los picos más significativos descritos anteriormente (Tabla 10) para corroborar la formación del nuevo compuesto. En la Figura 21 se presenta el espectro de masas de **2a**.

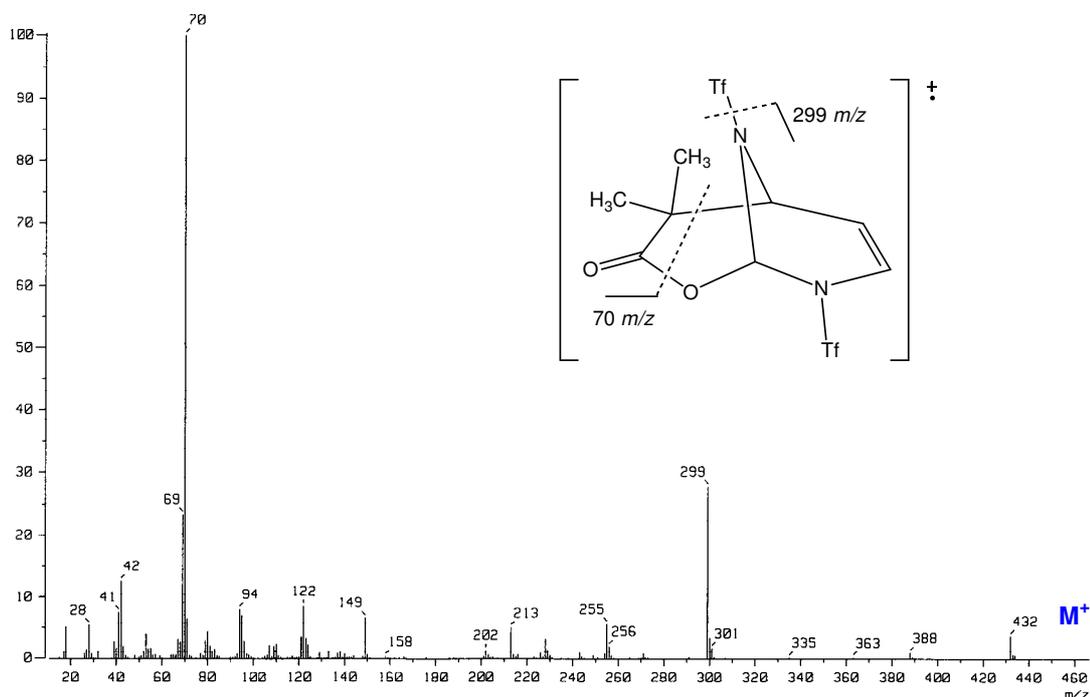
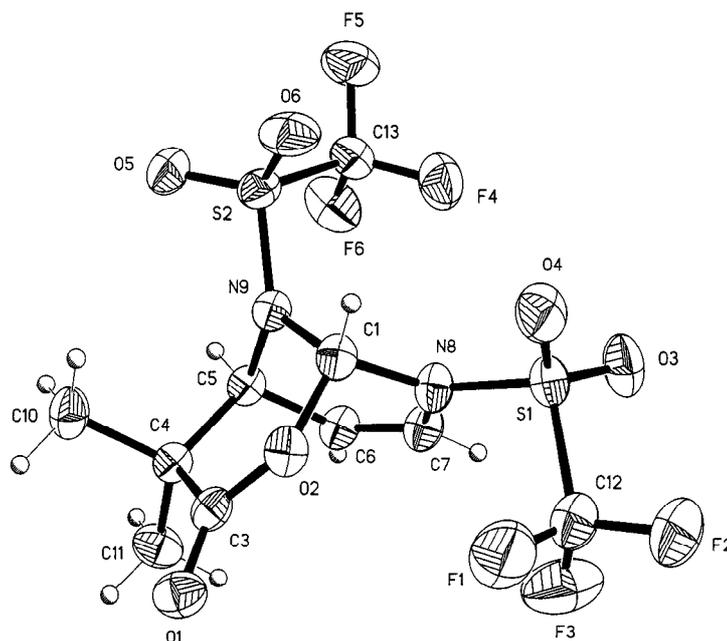


Figura 20. Espectro de masas de 2a.

Tabla 10. Distribución isotópica de los picos más significativos de 2a.

| Fragmento                              | m/z | Intensidad |
|--|-----|------------|
| $[C_{10}H_{10}F_6N_2O_6S_2]^{\dagger}$ | 432 | 100.0      |
|  | 433 | 13.5       |
|  | 434 | 10.8       |
|  | 435 | 1.1        |
|  | 436 | 0.2        |
| $[C_9H_{10}F_3N_2O_4S]^{\dagger}$      | 299 | 100.0      |
|  | 300 | 11.5       |
|  | 301 | 5.7        |
| $[C_4H_6O]^{\dagger}$                  | 70  | 100.0      |
|  | 71  | 4.2        |
|  | 72  | 0.2        |

Para el compuesto **2a** se logró obtener un cristal adecuado para su estudio por difracción de rayos-X, confirmándose plenamente su estructura (Figura 21). Los datos cristalográficos se describen en la Tabla 11, las distancias de enlace en la Tabla 12 y los ángulos de enlace en la Tabla 13.



**Figura 21.** Proyección tipo ORTEP para el compuesto **2a**.

Analizando los datos de longitudes de enlace más relevantes, podemos observar que la distancia C7-N8 [1.420(3) Å] concuerda con el valor reportado en la literatura para el enlace  $Csp^2-Nsp^3$  (1.416 Å), para el enlace  $Csp^3-Nsp^3$  la longitud de enlace reportada es de 1.469 Å y el valor encontrado para C1-N9 [1.437(3) Å], C1-N8 [1.456(3) Å] y C5-N9 [1.480(3) Å] la diferencia más notable en longitud de enlace está en el enlace C1-N9 que es más corto que el enlace C1-N8 probablemente esto se debe al impedimento estérico que hay entre los grupos trifluorometansulfonilo ocasionando que el enlace C1-N8 sea más largo. Por otra parte, se puede ver que las distancias de enlace N8-S1 [1.621(2) Å] y N9-S2 [1.608(2) Å] son ligeramente menores al reportado para una sulfonilamida (1.642 Å).<sup>[42]</sup>

Además, la suma de los ángulos de enlace de N8 (359°) y N9 (358°) corresponden con una geometría trigonal plana indicando una hibridación  $sp^2$ , contrario a lo encontrado en cuanto a la longitud del enlace, esta observación sugiere una participación de los orbitales  $3d$  del azufre y  $2p$  del nitrógeno en el fenómeno de retrodonación.

**Tabla 11. Datos cristalográficos de 2a.**

|   |   |
|---|---|
| Fórmula                                       | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> F <sub>6</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub> S <sub>2</sub> |
| Peso molecular (g/mol)                        | 432.32  |
| Tamaño del cristal (mm)                       | 0.34x0.25x0.15  |
| $\lambda$ (Å)                                 | 0.71073   |
| Sistema cristalino                            | Monoclínico   |
| Grupo espacial                                | C2/c  |
| <i>a</i> (Å)                                  | 24.757(2)   |
| <i>b</i> (Å)                                  | 10.884(1)   |
| <i>c</i> (Å)                                  | 12.368(1)   |
| $\alpha$ (°)                                  | 90  |
| $\beta$ (°)                                   | 94.67   |
| $\gamma$ (°)                                  | 90  |
| Volumen (Å <sup>3</sup> )                     | 3321.4(5)   |
| Z   | 8   |
| Densidad calculada (Mg/m <sup>3</sup> )       | 1.729   |
| Coefficiente de absorción (mm <sup>-1</sup> ) | 0.416   |
| Intervalo $\theta$ (°)                        | 1.65 a 25.36°   |
| Reflexiones colectadas                        | 13302   |

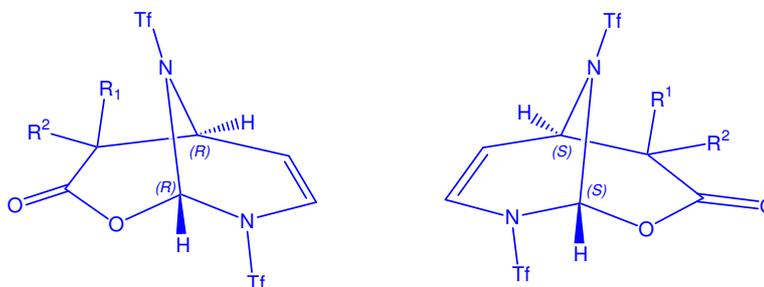
**Tabla 12. Distancias de enlace (Å) de 2a.**

|            |          |            |          |
|------------|----------|------------|----------|
| S(1)-O(3)  | 1.405(2) | O(1)-C(3)  | 1.196(3) |
| S(1)-O(4)  | 1.414(2) | C(1)-O(2)  | 1.418(3) |
| S(1)-N(8)  | 1.621(2) | C(1)-N(9)  | 1.437(3) |
| S(1)-C(12) | 1.822(3) | C(1)-N(8)  | 1.456(3) |
| S(2)-O(5)  | 1.407(2) | O(2)-C(3)  | 1.373(3) |
| S(2)-O(6)  | 1.411(2) | C(3)-C(4)  | 1.513(3) |
| S(2)-N(9)  | 1.608(2) | C(4)-C(11) | 1.531(3) |
| S(2)-C(13) | 1.836(3) | C(4)-C(5)  | 1.533(3) |
| F(1)-C(12) | 1.309(4) | C(4)-C(10) | 1.541(3) |
| F(2)-C(12) | 1.295(3) | C(5)-N(9)  | 1.480(3) |
| F(3)-C(12) | 1.285(4) | C(5)-C(6)  | 1.499(3) |
| F(4)-C(13) | 1.305(3) | C(6)-C(7)  | 1.312(3) |
| F(5)-C(13) | 1.309(3) | C(7)-N(8)  | 1.420(3) |
| F(6)-C(13) | 1.308(3) |            |          |

**Tabla 13.** Ángulos de enlace (°) de **2a**.

|                  |            |                  |            |
|------------------|------------|------------------|------------|
| O(3)-S(1)-O(4)   | 123.82(13) | C(3)-C(4)-C(11)  | 109.8(2)   |
| O(3)-S(1)-N(8)   | 108.73(12) | C(3)-C(4)-C(5)   | 110.0(2)   |
| O(4)-S(1)-N(8)   | 107.64(11) | C(11)-C(4)-C(5)  | 110.5(2)   |
| O(3)-S(1)-C(12)  | 105.25(15) | C(3)-C(4)-C(10)  | 105.79(19) |
| O(4)-S(1)-C(12)  | 105.68(15) | C(11)-C(4)-C(10) | 109.9(2)   |
| N(8)-S(1)-C(12)  | 103.98(13) | C(5)-C(4)-C(10)  | 110.8(2)   |
| O(5)-S(2)-O(6)   | 122.99(13) | N(9)-C(5)-C(6)   | 107.40(19) |
| O(5)-S(2)-N(9)   | 109.01(12) | N(9)-C(5)-C(4)   | 106.62(18) |
| O(6)-S(2)-N(9)   | 108.24(12) | C(6)-C(5)-C(4)   | 114.6(2)   |
| O(5)-S(2)-C(13)  | 104.53(15) | C(7)-C(6)-C(5)   | 123.4(2)   |
| O(6)-S(2)-C(13)  | 105.42(14) | C(6)-C(7)-N(8)   | 120.8(2)   |
| N(9)-S(2)-C(13)  | 105.21(13) | C(7)-N(8)-C(1)   | 116.45(19) |
| O(2)-C(1)-N(9)   | 110.22(19) | C(7)-N(8)-S(1)   | 122.24(16) |
| O(2)-C(1)-N(8)   | 109.0(2)   | C(1)-N(8)-S(1)   | 121.13(16) |
| N(9)-C(1)-N(8)   | 109.44(19) | C(1)-N(9)-C(5)   | 111.44(18) |
| C(3)-O(2)-C(1)   | 124.20(19) | C(1)-N(9)-S(2)   | 121.93(17) |
| O(1)-C(3)-O(2)   | 115.7(2)   | C(5)-N(9)-S(2)   | 124.78(16) |
| O(1)-C(3)-C(4)   | 124.5(2)   | F(4)-C(13)-F(6)  | 108.7(3)   |
| O(2)-C(3)-C(4)   | 119.6(2)   | F(4)-C(13)-F(5)  | 108.5(3)   |
| F(6)-C(13)-F(5)  | 109.6(3)   | F(3)-C(12)-F(1)  | 107.2(3)   |
| F(4)-C(13)-S(2)  | 110.3(2)   | F(2)-C(12)-F(1)  | 107.4(3)   |
| F(6)-C(13)-S(2)  | 110.4(2)   | F(3)-C(12)-F(1)  | 111.5(2)   |
| F(5)-C(13)-S(2)  | 109.4(2)   | F(2)-C(12)-S(1)  | 110.1(2)   |
| F(3)-C(12)-F(12) | 109.1(3)   | F(1)-C(12)-S(1)  | 111.4(2)   |

Por otra parte, la configuración de los estereoisómeros sintetizados es 1(R)-5(R) y 1(S)-5(S) como se puede observar en el Figura 22.

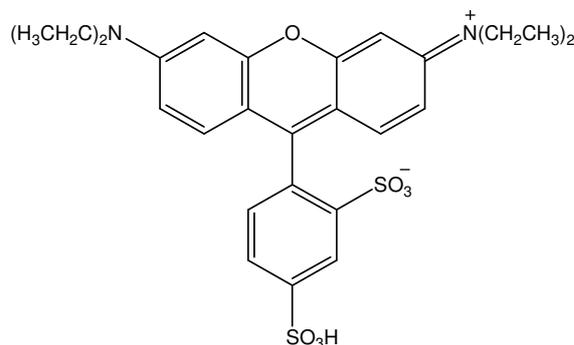


**Figura 22.** Configuración de los estereoisómeros de **2**.

## 2.4 ACTIVIDAD CITOTÓXICA

Los estudios de actividad citotóxica se llevaron a cabo en el laboratorio de Pruebas Biológicas del Instituto de Química de la UNAM a cargo de la M. en C. María Teresa Ramírez Apan.

Se realizaron ensayos para evaluar si las lactonas inhiben el crecimiento de células cancerosas, para ello se usaron los compuestos **1** y **2** probándose en seis líneas celulares que fueron U251 (glía de sistema nervioso central), PC-3 (próstata), K562 (leucemia), HCT-15 (colon), MCF-7 (mama) y SKLU-1 (pulmón). En un primer paso se llevó a cabo un crecimiento primario en donde las células se expusieron a las sustancias prueba empleando una concentración de 50  $\mu\text{M}$ , el porcentaje de inhibición del crecimiento se determinó por el método colorimétrico usando como cromóforo a la sulforodamina B (Figura 23). Se tomó como referencia al *cis*-platino (50  $\mu\text{M}$ ), un agente terapéutico bastante activo empleado en el tratamiento contra el cáncer.



**Figura 23. Sulforodamina B.**

Los resultados obtenidos (Tabla 14) mostraron que los valores del porcentaje de inhibición del crecimiento celular no fueron significativamente altos para las lactonas **1a** y **1b**, sin embargo se encontró que las lactonas **2a** y **2b** fueron las más activas.

**Tabla 14.** Porcentaje de inhibición del crecimiento por línea celular.

| Compuesto<br>(50 $\mu$ M) | U251<br>Sistema<br>nervioso | PC-3<br>Próstata | K562<br>Leucemia | HCT-15<br>Colon | MCF-7<br>Mama | SKLU-1<br>Pulmón |
|---------------------------|-----------------------------|------------------|------------------|-----------------|---------------|------------------|
| <b>1a</b>                 | 21.06                       | 24.61            | 44.31            | 21.82           | 7.76          | 19.27            |
| <b>1b</b>                 | 23.64                       | 23.16            | 46.51            | 22.88           | 6.08          | 37.43            |
| <b>2a</b>                 | 100                         | 100              | 100              | 100             | 100           | 100              |
| <b>2b</b>                 | 100                         | 100              | 100              | 100             | 100           | 100              |
| <b>Cis-platino</b>        | 95.1                        | 100              | 83.48            | 82.16           | 100           | 100              |

De la tabla anterior podemos hacer las siguientes observaciones:

Sobre las lactonas **1a** y **1b**

- Aunque de manera general los resultados son bajos en la mayoría de las líneas celulares, en el caso de las células de leucemia (K562) los resultados son buenos para ambas lactonas, ya que presentan porcentajes cercanos al 50%.
- Las lactonas **1a** y **1b** mostraron la mayor actividad en las células de leucemia. Mientras que la actividad más baja se encontró en la línea celular de cáncer de mama (MCF-7).
- En las células de adenocarcinoma de pulmón (SKUL-1) el porcentaje de inhibición es mucho mayor para la lactona **1b** lo cual nos indica que fue más activa que **1a**.

Sobre las lactonas 2a y 2b

- Ambas lactonas inhiben el 100% del crecimiento de las células cancerosas en las seis líneas celulares.
- Los valores del porcentaje de inhibición son mayores a los del *cis*-platino en las células del sistema nervioso central (U251), leucemia (K562) y colon (HCT-15).
- No es posible concluir sobre la selectividad hacia alguna de las seis líneas celulares ya que para ello es necesario obtener los valores de  $CI_{50}$ , que representan la concentración del compuesto en estudio a la cual se inhibe el 50% del crecimiento de las células cancerígenas.

**2.5 ACTIVIDAD ANTI-INFLAMATORIA**

Los estudios de actividad anti-inflamatoria también se realizaron en el laboratorio de pruebas biológicas del Instituto de Química de la UNAM a cargo de la M. en C. María Teresa Ramírez Apan.

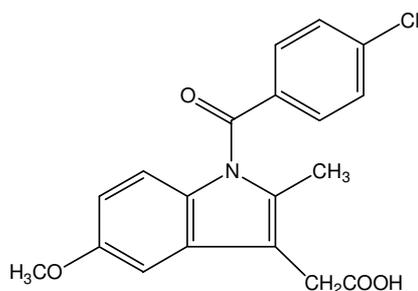
Para las pruebas de actividad anti-inflamatoria se usaron las lactonas obtenidas de la doble adición nucleofílica de los acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena con la pirazina. De acuerdo con los resultados obtenidos (Tabla 15) el orden de actividad de las lactonas es el siguiente: **1b > 1a**.

**Tabla 15.** Efecto de inhibición de los compuestos **1a**, **1b** e indometacina en el edema inducido por TPA en la oreja de ratón y los valores calculados de la concentración que inhibe el 50% del edema.

| Compuesto    | 0.56<br>μmol/oreja     | 1.0<br>μmol/oreja      | 1.78<br>μmol/oreja      | 3.1<br>μmol/oreja      | $CI_{50}$<br>μmol/oreja |
|--------------|------------------------|------------------------|-------------------------|------------------------|-------------------------|
| <b>1a</b>    | 22.76±1.25             | 33.8±6.1               | 47.64±2.5               | 61.30±12.2             | 1.94                    |
| <b>1b</b>    | 23.05±4.07             | 42.97±5.1              | 51.17±12.3              | 64.16±6.9              | 1.52                    |
| Indometacina | <sup>a</sup> 35.15±6.4 | <sup>b</sup> 48.18±2.0 | <sup>c</sup> 69.42±10.4 | <sup>d</sup> 89.19±2.6 | 0.26                    |

(Indometacina a=0.13, b=0.24, c=0.75, d=1.3 μmol/oreja)

Los resultados muestran que las lactonas bicíclicas **1** presentan actividad anti-inflamatoria dependiente de la concentración. Sin embargo, los valores altos de  $CI_{50}$  revelaron que las lactonas **1a** y **1b** son menos activas que el compuesto usado como referencia (indometacina).



**Figura 24. Indometacina.**

**CAPÍTULO 3**

**SECCIÓN**

**EXPERIMENTAL**

### 3.1 REACTIVOS

Los compuestos grado reactivo son productos comerciales de Aldrich Chemical Company, con excepción de la pirimidina, de marca Fluka. Todas las reacciones se realizaron bajo atmósfera de nitrógeno. El THF se secó a reflujo utilizando sodio y benzofenona como indicador.

### 3.2 CARACTERIZACIÓN INSTRUMENTAL

Los espectros de infrarrojo fueron obtenidos en un espectrómetro Tensor 27 Bruker empleando la técnica de película, el disolvente fue  $\text{CHCl}_3$ . Los espectros de RMN de  $^1\text{H}$  (300MHz) y  $^{13}\text{C}$  (75MHz) se realizaron en un espectrómetro JEOL ECLIPSE+300, el disolvente deuterado empleado fue cloroformo.

Los espectros de masas se determinaron en un equipo JEOL JMS-SX102A doble sector de geometría inversa, la técnica utilizada fue impacto electrónico ( $\text{IE}^+$ ). Los estudios de cristalografía de rayos-X de monocristal se realizaron en un difractor Bruker Smart Apex CCD. Las estructuras de los compuestos se resolvieron por métodos directos utilizando el programa SHELXS-90 y los átomos diferentes de hidrógeno se refinaron anisotrópicamente por mínimos cuadrados con el programa SHELXL-97.

### 3.3 SÍNTESIS DE LOS ÉSTERES DE TRIMETILSILILO Y DE LOS ACETALES DE *BIS*(TRIMETILSILIL)CETENAS

#### *3.3.1 Procedimiento*

El procedimiento para preparar los ésteres de trimetilsilicio y los acetales de *bis*(trimetilsilil)cetenas se realizó de acuerdo a lo descrito en la literatura.<sup>[4]</sup>

### 3.4 SÍNTESIS DE $\gamma$ -LACTONAS A PARTIR DE PIRAZINA

#### 3.4.1 Procedimiento

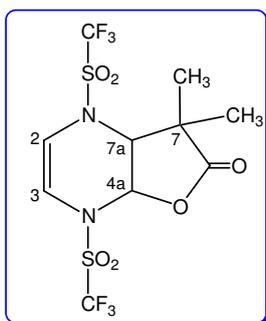
A un matraz redondo de 100 mL, provisto de agitación magnética, se adicionó la pirazina y se colocó en atmósfera de nitrógeno. En seguida se agregaron 20 mL de diclorometano anhidro. El matraz se introduce en un baño de hielo seco/acetona (-30°C, la temperatura se controló adicionando pequeñas cantidades de hielo seco) y se adicionó gota a gota anhídrido trifluorometansulfónico, se dejó agitando por diez minutos a la misma temperatura. Después de este tiempo, se adicionó 1.1 equivalentes del acetal de *bis*(trimetilsilil)cetena. Se retiró el baño de enfriamiento y se permitió llegar a temperatura ambiente la mezcla de reacción. La reacción permaneció en agitación por 12 horas. Finalmente, se virtió a la mezcla de reacción 40 mL de agua destilada, la fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro y se evaporó el disolvente a vacío. Las lactonas se purificaron por columna de gel de sílice, la mezcla de elusión (92:8) empleada fue hexano/acetato de etilo.

Cantidades empleadas para **1a**:

- 3.74 mmol (300 mg) de pirazina
- 7.49 mmol (2.11 g) de anhídrido trifluorometansulfónico
- 4.11 mmol (960 mg) de **23a**

Cantidades empleadas para **1b**:

- 6.24 mmol (500 mg) de pirazina
- 12.48 mmol (3.52 g) de anhídrido trifluorometansulfónico
- 12.48 mmol (3.4 g) de **23b**

**Compuesto 1a:****7,7-Dimetil-1,4-*bis*(trifluorometansulfonyl)-1,4,4a,6,7,7a-hexahidrofuro[2,3-*b*]pirazin-6-ona**

Rendimiento: 47%

Fórmula molecular: C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>F<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S<sub>2</sub>

Apariencia física: sólido blanco cristalino

Peso molecular: 432.32 g/mol

Punto de fusión: 128 °C

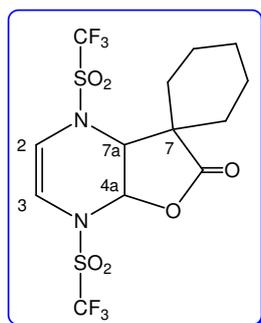
Datos espectroscópicos:

**IR**  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 3136 (=C-H); 2989, 2948 (CH); 1809 (C=O lactona); 1417 (C-O); 1231 y 1145 (SO<sub>2</sub>); 1196 y 670 (CF<sub>3</sub>).

**RMN <sup>1</sup>H** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 6.42 (m, 2H, H2 y H3), 6.22 (d, 1H, H4a, *J* = 8 Hz), 4.83 (d, 1H, H7a, *J* = 8 Hz), 1.44 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.34 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

**RMN <sup>13</sup>C** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 175.4 (C=O), 119.8 (q, CF<sub>3</sub>, *J* = 322 Hz), 119.2 (q, CF<sub>3</sub>, *J* = 320 Hz), 116.1 (C2, C3), 82.9 (C4a), 66.3 (C7a), 43.7 (C7), 25.5 (CH<sub>3</sub>), 20.7 (CH<sub>3</sub>).

**EM** (IE<sup>+</sup>, 70 eV) *m/z* (%): 432 (50) M<sup>+</sup>, 299 (100) [M-133]<sup>+</sup>, 271 (30) [M-161]<sup>+</sup>, 229 (30) [M-203]<sup>+</sup>, 201 (40) [M-231]<sup>+</sup>.

**Compuesto 1b:****7-Espirociclohexil-1,4-bis(trifluorometansulfonil)-1,4,4a,7,7a-hexahidrofuro[2,3-b]pirazin-6-ona**

Rendimiento: 50%

Fórmula molecular: C<sub>13</sub>H<sub>14</sub>F<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S<sub>2</sub>

Apariencia física : sólido blanco cristalino

Peso molecular: 472.13 g/mol

Punto de fusión: 111 °C

Datos espectroscópicos:

**IR**  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 3124 (=C-H); 2950, 2871 (CH); 1799 (C=O lactona); 1412 (C-O); 1230 y 1156 (SO<sub>2</sub>); 666 (CF<sub>3</sub>).

**RMN <sup>1</sup>H** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 6.45 (d, 1H, H2, *J* = 5 Hz), 6.36 (d, 1H, H3, *J* = 5 Hz), 6.16 (d, 1H, H4a, *J* = 8), 4.76 (d, 1H, H7a, *J* = 8 Hz), 2.1-1.5 (m, 10H, H<sub>ciclohexilo</sub>).

**RMN <sup>13</sup>C** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 173.2 (C=O); 119.8 (q, CF<sub>3</sub>, *J* = 323 Hz); 119.6 (q, CF<sub>3</sub>, *J* = 320); 117.6 (C2); 113.9 (C3); 82.9 (C4a); 67.3 (C7a); 45.1 (C7); 34.5, 29.2, 24.5, 20.9, 20.5 (C<sub>ciclohexilo</sub>).

**EM** (IE<sup>+</sup>, 70 eV) *m/z* (%): 472 (40) M<sup>+</sup>, 339 (100) [M-133]<sup>+</sup>, 311 (35) [M-161]<sup>+</sup>, 283 (5) [M-189]<sup>+</sup>, 213 (35) [M-259]<sup>+</sup>.

### 3.5 SÍNTESIS DE $\delta$ -LACTONAS A PARTIR DE PIRIMIDINA

#### 3.5.1 Procedimiento

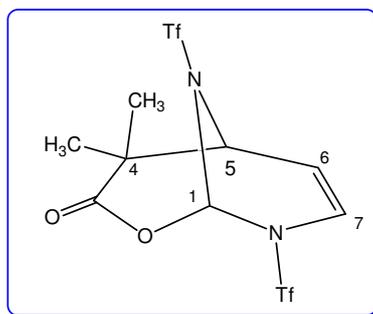
A un matraz redondo de 100 mL provisto de agitación magnética y bajo atmósfera de nitrógeno, se adicionó la pirimidina y 20 mL de diclorometano anhidro. El matraz se colocó en un baño de hielo seco/acetona (-30 °C, la temperatura se controló adicionando pequeñas cantidades de hielo seco) y se adicionó gota a gota anhídrido trifluorometansulfónico y se dejó agitando por 10 minutos. Transcurrido este tiempo, se agregó el acetal de bis(trimetilsilil)cetena. Se retiró el baño de enfriamiento y se permitió llegar a temperatura ambiente. La agitación se mantuvo por 12 horas. Finalmente, se vertió a la mezcla de reacción 40 mL de agua destilada, se separó la fase orgánica, se secó con sulfato de sodio anhidro y se evaporó el disolvente a vacío. Las lactonas se purificaron por columna de gel de sílice, la mezcla de elusión (92:8) empleada fue hexano/acetato de etilo.

Cantidades empleadas para **2a**:

- 3.8 mmol (0.3 mL) de pirimidina
- 7.5 mmol (2.11 g) de anhídrido trifluorometansulfónico
- 7.5 mmol (1.74 g) de **23a**

Cantidades empleadas para **2b**:

- 3.8 mmol (0.3 mL) de pirimidina
- 7.5 mmol (2.11 g) de anhídrido trifluorometansulfónico
- 7.5 mmol (2.04 g) de **23b**

**Compuesto 2a:****4,4-Dimetil-8,9-*bis*(trifluorometansulfonil)-2-oxa-8,9-diaza-biciclo[3.3.1]non-6-en-3-ona**

Rendimiento: 42%

Fórmula molecular: C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>F<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S<sub>2</sub>

Apariencia física: sólido blanco cristalino

Peso molecular: 432.32 g/mol

Punto de fusión: 78 °C

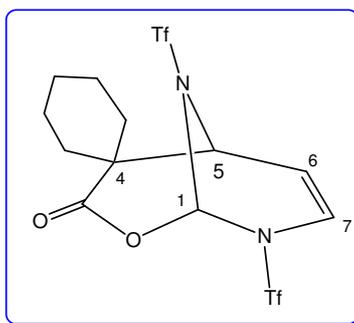
Datos espectroscópicos:

**IR**  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 3110 (=C-H); 3045, 2985 (CH); 1775 (C=O lactona); 1416 (C-O); 1231 (SO<sub>2</sub>); 1161 y 699 (CF<sub>3</sub>).

**RMN <sup>1</sup>H** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 7.14 (s, 1H, H1), 6.67 (d, 1H, H7, J = 9 Hz), 5.59 (dd, 1H, H6, J = 9 Hz, J = 5 Hz), 4.26 (d, 1H, H5, J = 5 Hz), 1.49 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.39 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

**RMN <sup>13</sup>C** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 169.2 (C=O lactona), 119.2 (q, CF<sub>3</sub>, J = 319 Hz), 119.1 (CF<sub>3</sub>, J = 320 Hz), 121.6 (C7), 107.1 (C6), 87 (C1), 56.3 (C5), 44.9 (C4), 25.8 (CH<sub>3</sub>), 22.3 (CH<sub>3</sub>).

**EM** (IE<sup>+</sup>, 70 eV) *m/z* (%): 432 (5) M<sup>+</sup>, 299 (30) [M-133]<sup>+</sup>, 213 (5) [M-219]<sup>+</sup>, 122 (10) [M-310]<sup>+</sup>, 70 (100) [M-362]<sup>+</sup>.

**Compuesto 2b:****4-Espirociclohexil-8,9-bis(trifluorometanslfonil)-2-oxa-8,9-diaza-biciclo[3.3.1]non-6-en-3-ona**

Rendimiento: 55%

Fórmula molecular:  $C_{13}H_{14}F_6N_2O_6S_2$

Apariencia física: sólido blanco cristalino

Peso molecular: 472.13 g/mol

Punto de fusión: 88 °C

Datos espectroscópicos:

**IR**  $\nu$  ( $cm^{-1}$ ): 3112 (=C-H); 2949, 2871 (CH); 1775 (C=O lactona); 1421 (C-O); 1220 ( $SO_2$ ); 1144 y 695 ( $CF_3$ ).

**RMN  $^1H$**  (300 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 7.09 (s, 1H, H1), 6.67 (d, 1H, H7,  $J = 9$  Hz), 5.56 (dd, 1H, H6,  $J = 9, 5$  Hz), 4.6 (d, 1H, H5,  $J = 5$  Hz), 2.12-1.36 (m, 10H,  $H_{ciclohexilo}$ ).

**RMN  $^{13}C$**  (75 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 168.8 (C=O lactona); 119.2 (q,  $CF_3$ ,  $J = 319$  Hz); 119.1 (q,  $CF_3$ ,  $J = 320$  Hz); 121.4 (C7); 106.7 (C6); 86.3 (C1); 52.4 (C5); 48.4 (C4); 32.5, 30.7, 24.8, 20.7 ( $C_{ciclohexilo}$ ).

**EM** ( $IE^+$ , 70 eV)  $m/z$  (%): 472 (5)  $M^+$ , 339 (40)  $[M-133]^+$ , 213 (15)  $[M-259]^+$ , 110 (100)  $[M-362]^+$ .

## 3.6 ACTIVIDAD BIOLÓGICA

### 3.6.1 Pruebas de citotoxicidad

Las líneas cancerosas utilizadas en las pruebas biológicas son: U251, glías del sistema nervioso central; PC-3, células de adenocarcinoma de próstata; K562, células de leucemia mieloblástica crónica; HCT-15, células de adenocarcinoma de colon; MCF-7, células de adenocarcinoma de glándulas mamarias; y SKLU-1, células de adenocarcinoma de pulmón. Los estudios de citotoxicidad se llevaron a cabo en el laboratorio de pruebas biológicas del Instituto de Química de la UNAM, las líneas celulares pertenecen al panel del NCI (National Cancer Institute).

Las células fueron adaptadas al medio de cultivo RPMI-1640 adicionando un suero fetal bovino al 10% y una mezcla de antibióticos-antimicóticos al 10% y 2 mM de glutamina. Con excepción de la línea celular K-562, las líneas restantes se adhieren a las botellas de cultivo y para cosecharlas se adicionó 1 mL de tripsina-EDTA al 0.05%. Una vez que las células se desprendieron del sustrato plástico de la botella de cultivo, se les adicionó 5-10 mL de medio de cultivo para inactivar la tripsina que produce la digestión de las proteínas de adherencia. Las células en suspensión se depositaron en tubos cónicos y se centrifugaron por tres minutos; ya formado el paquete celular se le adicionó medio de cultivo para resuspender las células. De la suspensión se tomaron 0.05 mL del inóculo y se resuspendieron en 0.45 mL de azul de triptano, colorante que permite contar las células vivas. Posteriormente, se tomó una alícuota de 10  $\mu$ L y el conteo de las células se realizó en una cámara de Neubauer con ayuda de un microscopio. El número de células por mililitro de suspensión se obtuvo con la siguiente ecuación:

$$C = (RC)(10^{-4})$$

Donde:  
C = número de células en 1 mL de suspensión  
RC = promedio de células obtenido de la cuenta de los 4 cuadrantes de la cámara

Determinando el número de células por mililitro se realizaron los ajustes necesarios. Para realizar los ensayos se utilizaron microplacas de plástico, cada placa se inoculó con dos líneas celulares por triplicado y pre inoculó por 24 h a 37°C. Posteriormente, se adicionaron 50 µM de las sustancias de prueba o fármacos de referencia. Nuevamente la placa se incubó por 48 h bajo las condiciones mencionadas anteriormente.

Al finalizar el periodo de incubación de los compuestos con las células éstas se fijaron. El teñido de las células fijadas se hizo con una solución al 0.4% de sulforodamina B y se incubaron por 30 minutos a temperatura ambiente. El colorante se extrajo con una disolución 10 mM de base Tris (Sigma). Las absorbancias se determinaron en un lector de placas a una  $\lambda$  de 515 nm. La intensidad del color es directamente proporcional al número de células vivas, por lo tanto, a mayor coloración menor porcentaje de inhibición del crecimiento celular.

La citotoxicidad se calculó conforme a la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de inhibición del crecimiento} = 100 - [B / A \times 100]$$

Donde:

A = densidad óptica (DO) de las células sin tratar

B = DO de las células tratadas con sustancias de prueba o de referencia.

### ***3.6.2 Actividad anti-inflamatoria***

La prueba de edema en la oreja de ratón inducido por TPA se basó en el método descrito por Merlos et al.<sup>[43]</sup>

Un grupo de 6 ratones machos NIH fue anestesiados con Sedaphorte® y se les aplicó tópicamente en ambas caras de la oreja derecha (5 µL en cada cara), una solución de 1-acetato de 12-O-tetradecanoilforbol (2.5 µg) disuelto en etanol (10 µL). En la oreja izquierda recibieron únicamente etanol (10 µL). Después de diez minutos del tratamiento con TPA, se aplicaron dosis de 0.56 a 3.1 µmol de los compuestos en estudio, o indometacina como referencia, en 20 µL de acetona aplicándose en ambas caras de la

oreja derecha (10  $\mu$ L en cada cara). Los animales control recibieron únicamente etanol-diclorometano. Cuatro horas después los animales fueron sacrificados por dislocación cervical y fueron removidas biopsias (7 mm de diámetro) de cada oreja.

El porcentaje de inhibición del edema (%IE) fue calculado, tomando en cuenta la diferencia en masa entre las dos biopsias, con la siguiente ecuación:

$$\%IE = [(edema A - edema B)/edema A] \times 100$$

Donde:

Edema A = edema inducido por TPA

Edema B = edema inducido por TPA más muestra

---

## CONCLUSIONES

- Se logró preparar nuevas lactonas bicíclicas a partir de la pirazina y pirimidina siguiendo el método descrito por nuestro grupo de investigación,<sup>[4]</sup> pero en nuestro caso activando la pirazina a la doble adición nucleofílica empleado el anhídrido trifluorometansulfónico.
- A diferencia de las lactonas obtenidas a partir de los complejos  $\eta^6$ -arentricarbonilcromo y de la piridina, no fue necesario agregar yodo para realizar la lactonización, ya que no se observa en ninguno de los casos la formación del ácido carboxílico correspondiente, debido a la doble activación de la diazina.
- En cuanto a la selectividad de la reacción, se forma la mezcla de estereoisómeros de las *cis*-lactonas.
- Al evaluar la actividad citotóxica en las líneas celulares de cáncer humano (glía de sistema nervioso central, próstata, leucemia, colon, mama y pulmón) las lactonas **1a** y **1b** no mostraron actividad significativa. Sin embargo, en las células de leucemia mostraron ambas lactonas los porcentajes más altos de inhibición (arriba del 40%). Los valores más bajos del porcentaje de inhibición se encontraron en la línea celular de cáncer de mama tanto para **1a** como para **1b**. Mientras que las lactonas **2a** y **2b** son las más activas con 100% de inhibición del crecimiento de las células cancerosas en las seis líneas celulares.
- En cuanto a las pruebas de actividad anti-inflamatoria en el edema inducido con TPA en la oreja de ratones machos las lactonas **1a** y **1b** presentaron actividad dependiente de la concentración. Las lactonas estudiadas en esta prueba no mostraron actividad dado que el valor de  $CI_{50}$  es más alto que el obtenido para el compuesto usado como referencia (indometacina).

## PERSPECTIVAS

- Ampliar el estudio sintetizando nuevas lactonas, diversificando los sustituyentes de los acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena y de las diazinas.
- Funcionalización del doble enlace de los nuevos productos obtenidos, probando reacciones de epoxidación.
- Desarrollar la versión estereoselectiva de las reacciones estudiadas utilizando un inductor quiral apropiado.
- Realizar estudios de citotoxicidad de las lactonas más activas (**2a**, **2b**) para determinar la concentración del compuesto que produce el 50% de inhibición en la proliferación celular conocido como  $CI_{50}$ .
- Estudiar la relación estructura-actividad de nuevas lactonas en las pruebas de actividad citotóxica y anti-inflamatoria.

## REFERENCIAS

- [1] Hoffmann, H. R.; Rabe, J., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1985**, *24*, 94.
- [2] Rudler, H.; Parlier, A.; Cantagrel, F.; Harris, P.; Bellassoued, M., *Chem. Commun.*, **2000**, 771.
- [3] Bellassoued, M.; Chelain, E.; Collot, J.; Rudler, H.; Vaissermann, J., *Chem. Commun.*, **1999**, 187.
- [4] (a) Aldeco, E. J., *Síntesis de lactonas policíclicas vía complejos de tricarbonilcromo y acetales de bis(trimetilsilil)cetenas*, Tesis de Doctorado, UNAM, Ciudad de México **2006**.
- (b) Aldeco-Pérez, E.; Rudler, H.; Parlier, A.; Álvarez, C.; Apan, M. T.; Herson, P.; Toscano, A., *Tetrahedron Lett.*, **2006**, 59.
- [5] Rudler, H.; Denise, B.; Xu, Y.; Vaissermann, J., *Tetrahedron Lett.*, **2005**, *46*, 3449.
- [6] Toscano, R.; Moya, M.; Amabile, C.; Penieres, G.; Álvarez, C., *Heteroatom Chem.*, **2000**, *11*, 308.
- [7] Patai, S., *Suplement B: The chemistry of acid derivatives, Part 1*, John Wiley & Sons, London, **1979**, Chapter 10.
- [8] Koch, S. S. C.; Chamberlin, A. R.; *J. Org. Chem.*, **1993**, *58*, 2725.
- [9] Danishefsky, S.; Schuda, P. F.; Kitahara, T.; Etheredge, S. J.; *J. Am. Chem. Soc.*, **1997**, 6066.
- [10] Carey, F.A., *Organic Chemistry*, 6a ed., McGraw-Hill, New York, **2006**, 845-846.
- [11] Glasby, J. S., *Encyclopaedia of antibiotics*, 2a ed., John Wiley & Sons, Chichester, **1979**.
- [12] Solomons, T. W.G., *Organic Chemistry*, 5a ed., John Wiley & Sons, New York, **1992**, 785.
- [13] Allinger, N. L., *Organic Chemistry*, Worth Publishers, New York, **1971**, 553-555.
- [14] March, J.; *Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms and Structure*, 5a. ed., McGraw-Hill, New York, **2001**, 1043.
- [15] Ogliaruso, M. A.; Wolfe, J. F., *Synthesis of Lactones and Lactams*, John Wiley & Sons, Chichester, **1993**, Chapter 1.
- [16] Cardillo, G.; Orena, M., *Tetrahedron*, **1990**, *46*, 3321.
- [17] Ohfuné, Y.; Kurokawa, N., *Tetrahedron Lett.*, **1985**, *26*, 5307.
- [18] Ege, S. N., *Organic Chemistry*, 3a ed., D.C. Heath and Company, New York, **1994**.

- [19] (a) Palmer, M. H.; Arnold, E., *The structure and Reactions of Heterocyclic Compounds*, Publishers Ltd., London, **1967**, Chapter 3.  
(b) Joule, J.A.; Mille, K., *Heterocyclic Chemistry*, 4a ed., Blackwell Science, London, **2000**, 190-198.
- [20] McElvain, *Chem. Rev.*, **1949**, *45*, 453.
- [21] Tokuyasu, T.; Mayr, H., *Eur. J. Org. Chem.*, **2004**, 2791.
- [22] Mukaiyama, T.; Banno, K.; Narasaka, K., *J. Am. Chem. Soc.*, **1974**, 7503.
- [23] Ainsworth, C.; Kuo, Y.N., *J. Organomet. Chem.*, **1972**, *46*, 73.
- [24] Brady, W.; Agho, M. O., *J. Heterocycl. Chem.*, **1983**, *20*, 501.
- [25] (a) Bellassoued, M.; Gaudemar, M., *J. Organomet. Chem.*, **1984**, *263*, C21.  
(b) Bellassoued, M.; Ennigrou, R.; Gaudemar, M., *J. Organomet. Chem.*, **1988**, *338*, 149.
- [26] Bellassoued, M.; Ennigrou, R.; Gaudemar, M., *J. Organomet. Chem.*, **1990**, *393*, 19.
- [27] (a) Bellassoued, M.; Dubois, J. E.; Bertounesque, E., *Tetrahedron Lett.*, **1986**, *27*, 2623.  
(b) Mladenova, M.; Bellassoued, M., *Synth. Commun.*, **1993**, *23*, 725.
- [28] Albert, B.; Bray, D.; Lewis, J.; Raff, M.; Roberts, K.; Watson, J., *Molecular Biology of the cell*, 3a ed., Garland Publishing, New York, **1994**.
- [29] (a) Litter, M., *Farmacología Experimental y Clínica*, 7a ed., Librería "El Ateneo", Buenos Aires, **1988**, 1260.  
(b) Guyton, A. C., *Tratado de Fisiología Médica*, McGraw-Hill Interamericana, Ciudad de México, **2001**, 482.
- [30] (a) Rang, H. P.; Dale, M. M.; Ritter, J. M.; Flower, R. J., *Pharmacology*, 6a ed., Churchill Livingstone Elsevier, Philadelphia, **2007**, 202.  
(b) Roitt, I. M.; Brostoff, J.; Male, D. K., *Inmunología*, 3a ed., Ediciones Científicas y Técnicas S. A., Ciudad de México, **1989**, 15.
- [31] Rudler, H.; Harris, P.; Parlier, A.; Cantagrel, F.; Denise, B.; Bellassoued, M.; Vaissermann, J., *J. Organomet. Chem.*, **2001**, *624*, 186.
- [32] Rudler, H.; Álvarez, C.; Parlier, A.; Perez, E.; Denise, B.; Xu, Y., Vaissermann, J., *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 2409.
- [33] Rudler, H.; Denise, B.; Xu, Y.; Parlier, A.; Vaissermann, J., *Eur. J. Org. Chem.*, **2005**, 3724.

- [34] Rudler, H.; Comte, V.; Garrier, E.; Bellassoued, M.; Chelain, E.; Vaissermann, J., *J. Organomet. Chem.*, **2001**, 621, 284.
- [35] Rudler, H.; Denise, B.; Parlier, A.; Daran, J. C., *Chem. Commun.*, **2002**, 940.
- [36] Langer, P.; Rotzoll, S.; Ullah, E.; Fisher, C.; Michaelik, D.; Spannenberg, A., *Tetrahedron*, **2006**, 62, 12084.
- [37] (a) Moya, M. M., *Síntesis de derivados N-trifluorometansulfonil-1-azahexa-1,3,5-trienos a partir de la apertura nucleofílica de sales de piridinio*, Tesis de Doctorado, UNAM, Ciudad de México, **2001**.  
(b) König, W., *J. Prakt. Chem.*, **1904**, 69, 296.
- [38] Baldwin, J. E., *J. C. S. Chem. Comm.*, **1976**, 734.
- [39] <http://www2.sisweb.com/mstools/isotope.htm>
- [40] Akiba, K.; Yamamoto, Y.; Sakaguchi, A.; Yoshida, H., *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, **1988**, 725.
- [41] Pretsch, E.; Clerc, T.; Seibl, J.; Simon, W., *Tablas para la elucidación estructural de compuestos orgánicos por métodos espectroscópicos*, Alambra, Madrid, **1980**.
- [42] Allen, F.; Kennard, O.; Watson, D., *J. Chem. Soc. Perkin Trans II*, **1987**, S1.
- [43] Merlos, M.; Gómez, L.A.; Girl, M.; Vencat, M.L; García, R. J.; Form, J., Effects of PAF-antagonists in mouse ear edema induced by several inflammatory agents, *Br. J. Pharmacol.*, **1991**, 104.